

DER EINFLUSS VON KETOCONAZOL
AUF DIE 11 β -HYDROXYLASE-
UND 18-HYDROXYLASEAKTIVITÄT
MENSCHLICHER NEBENNIEREN

Christian Jaspers



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554617_0064

Aus der Medizinischen Klinik II der Universität München,
Klinikum Großhadern
Direktor: Professor Dr. med. G. Paumgartner

DER EINFLUSS VON KETOCONAZOL AUF DIE
11 β -HYDROXYLASE- UND 18-HYDROXYLASE-
AKTIVITÄT MENSCHLICHER NEBENNIEREN

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Christian Jaspers
aus Greven

1987

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. med. D. Engelhardt

Mitberichterstatter: 1. Professor Dr. med. G. Baumgartner

2. Professor Dr. med. E. Kuss

Dekan: Professor Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 26. März 1987

Danksagungen

Herrn Professor Dr. med. D. Engelhardt danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die wertvollen Ratschläge und die Förderung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. Dr. D. Stamm, meinem Vertrauensdozenten bei der "Studienstiftung des deutschen Volkes", danke ich für seine vielen hilfreichen Ratschläge in Laufe meines Studiums.

Bei meinen Eltern möchte ich mich an dieser Stelle ganz herzlich für die großzügige Unterstützung bedanken, die ich von ihnen während des gesamten Studiums in jeder Hinsicht erfahren habe.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Fragestellung	3
3. Versuchsteil	4
3.1. Prinzip des methodischen Vorgehens	4
3.2. Verzeichnis der verwendeten Substanzen und Geräte	5
3.2.1. Steroidreinsubstanzen	5
3.2.2. Reagenzien	6
3.2.3. Inkubationsmedium	7
3.2.4. Apparate und Hilfsgeräte	8
3.3. Experimentelles Vorgehen	9
3.3.1. Gewebe	9
3.3.2. Inkubation	11
3.3.3. Extraktion der Metabolite	13
3.3.4. Flüssigkeitsverteilung	14
3.3.5. Dünnschichtchromatographie	15
3.3.6. Radioaktivitätsmessung und Berechnung	17
3.4. Methodenkritische Anmerkungen	19
3.4.1. Inkubationsbedingungen	19
3.4.2. Substratmengen	21
3.4.3. Dünnschichtchromatographie	22
3.4.4. Kontrollansätze	24
3.4.5. Berechnung	26

	Seite
4. Ergebnisse	27
4.1. Inkubationsversuche mit ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron	27
4.2. Inkubationsversuche mit ^3H -11-Desoxycortisol	29
4.3. Inkubationsversuche mit ^3H -11-Desoxycorticosteron	34
4.4. Inkubationsversuche mit ^3H -Corticosteron	40
5. Diskussion der Ergebnisse	46
6. Zusammenfassung	53
7. Autorenverzeichnis	54
8. Anhang	71

1.EINLEITUNG

Ketoconazol (Nizoral^R, Abb. 1) ist ein oral anwendbares Antimykotikum mit breitem Spektrum (87). Seine antifungale Wirkung beruht auf einer Hemmung der Demethylierung an der Position 14 des Lanosterins. Dies führt zu einer Beeinträchtigung der Biosynthese des Ergosterins, eines der Hauptbestandteile der Zellmembranen bei Pilzen (18).

Der gleiche Mechanismus ruft in Säugetierzellen eine Reduktion der Cholesterinbildung aus Lanosterin hervor, wie Willemsens et al. (1980) bei Versuchen mit Rattenlebern feststellten (122). In Experimenten mit isolierten Nebennierenzellen von Ratten und Mäusen zeigten Loose et al. (1983) bzw. Kowal (1983) eine Hemmung der Konversion von 11-Desoxycorticosteron zu Corticosteron durch Ketoconazol (51, 56). Außerdem wiesen Loose et al. (1983) bei Ratten eine Inhibierung der Umsetzung von Cholesterin zu Pregnenolon nach (56).

Bei in vivo Studien beobachteten Pont et al. (1982) bei gesunden Versuchspersonen unter Ketoconazol einen verminderten

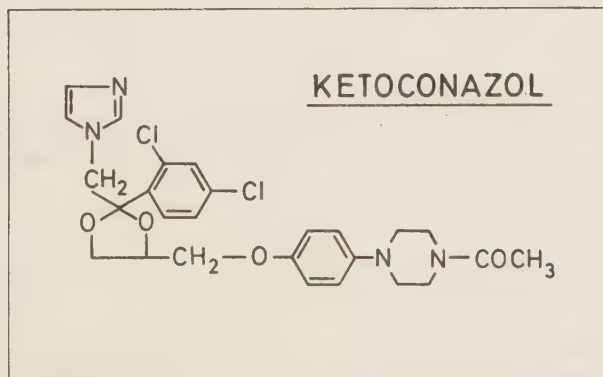


Abbildung 1

Anstieg des Serumcortisols nach Gabe von ACTH (84). Engelhardt et al. (1983) fanden bei einem Patienten mit einem Cortisolproduzierenden Nebennierenadenom einen deutlichen und reproduzierbaren Abfall des Serumcortisolspiegels nach mehrfacher Verabreichung von Ketoconazol. An dem operativ entfernten Tumor wurde in vitro eine Verminderung der Cortisolsynthese unter Ketoconazol nachgewiesen (35). Bei fünf weiteren Patienten mit einem Cushing-Syndrom, dem in zwei Fällen ein Nebennierenadenom, in den drei übrigen eine bilaterale Nebennierenrindenhyperplasie zugrunde lag, stellten Engelhardt et al. (1983) unter Ketoconazol ein Absinken des Serumcortisolspiegels unterschiedlichen Ausmaßes fest. Zudem wurde durch Ketoconazol der ACTH-induzierte Cortisolanstieg teilweise oder völlig supprimiert. Inkubationen mit Nebennierengewebe von drei dieser fünf Patienten zeigten eine Verminderung der Cortisolkonzentrationen im Überstand um 40-76% durch Ketoconazol (34).

2. FRAGESTELLUNG

Die in vivo Untersuchungen von Pont et al. und in vivo und in vitro Studien von Engelhardt et al. zeigten, daß Ketoconazol beim Menschen die Cortisolsynthese normaler und hyperplastischer Nebennierenrinden wie auch die von Nebennierenrindenadenomen hemmt. Hieraus ergeben sich folgende Fragen:

1. Lassen sich beim Menschen in vitro Stoffwechselschritte der Cortisolsynthese durch Ketoconazol hemmen und ist damit möglicherweise eine Abnahme der Cortisolproduktion verbunden?
2. Ab welchen Ketoconazolkonzentrationen im Inkubationsmedium lassen sich Effekte auf die Steroidsynthese zeigen?
3. Wie stark inhibiert Ketoconazol die jeweiligen Syntheseschritte? Läßt sich ein maximaler Hemmeffekt feststellen und unter welchen Ketoconazolkonzentrationen tritt dieser auf?
4. Werden neben der Cortisolsynthese weitere Biosynthesewege der menschlichen Nebennierenrinde durch Ketoconazol beeinflußt?

Unter diesen Gesichtspunkten wurde Nebennierengewebe vom Menschen mit radioaktiv markierten Zwischenstufen der Gluco- und Mineralocorticoidsynthese und verschiedenen Mengen Ketoconazol inkubiert.

3. VERSUCHSTEIL

3.1. Prinzip des methodischen Vorgehens

1. Inkubation von je 100mg Nebennierengewebe mit ^3H -markierten Steroiden und unterschiedlichen Mengen Ketoconazol in Krebs-Henseleit-Ringer-Phosphatpuffer bei 37°C .
2. Homogenisierung der Gewebeschnitte und Zusatz von ^{14}C -markierten Steroiden zur Wiederfindungsbestimmung.
3. Extraktion der Steroide durch Ausschütteln mit Chloroform und Methanol/n-Heptan (5:1).
4. Auftrennung der Extrakte durch Dünnschichtchromatographie.
5. Messung der Radioaktivität der isolierten Steroide im Szintillationszähler.
6. Berechnung des Substratumsatzes.

3.2. Verzeichnis der verwendeten Substanzen und Geräte

3.2.1. Steroidreinsubstanzen

3.2.1.1. Nicht radioaktiv markierte Steroide

Aldosteron (A): 11 β ,21-Dihydroxy-3,20-dioxo-4-pregnen-
18-al-18,11-hemiacetal

Corticosteron (B): 11 β ,21-Dihydroxy-4-pregnen-3,20-dion

Cortisol (F): 11 β ,17,21-Trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion

Cortison (E): 17,21-Dihydroxy-4-pregnen-3,11,20-trion

11-Desoxycorticosteron (DOC): 21-Hydroxy-4-pregnen-3,20-dion

11-Desoxycortisol (S): 17,21-Dihydroxy-4-pregnen-3,20-dion

18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B): 11 β ,21-Dihydroxy-3,20-
dioxo-4-pregnen-18-ol

18-Hydroxydesoxycorticosteron (18-OH-DOC): 18,21-Dihydroxy-4-
pregnen-3,20-dion

17-alpha-Hydroxyprogesteron (17-OH-P): 17-Hydroxy-4-pregnen-
3,20-dion

Die Steroide wurden von der Fa. Sigma Chemie GmbH, Taufkirchen bei München, bezogen.

3.2.1.2. Radioaktiv markierte Steroide

	spezifische Aktivität
1,2- ³ H-Corticosteron	49,7 Ci/mmol
1,2- ³ H-11-Desoxycortisol	58,6 Ci/mmol
1,2- ³ H-11-Desoxycorticosteron	41,8 Ci/mmol
1,2- ³ H-17-alpha-Hydroxyprogesteron	50,0 Ci/mmol
4- ¹⁴ C-Aldosteron	50-60 mCi/mmol
4- ¹⁴ C-Corticosteron	50,0 mCi/mmol
4- ¹⁴ C-Cortisol	55,5 mCi/mmol
4- ¹⁴ C-11-Desoxycorticosteron	58,5 mCi/mmol
4- ¹⁴ C-17-alpha-Hydroxyprogesteron	50,0 mCi/mmol

1,2-³H-Corticosteron wurde von der Fa. Amersham Buchler, Braunschweig, bezogen, alle übrigen radioaktiv markierten Steroide von der Fa. New England Nuclear, Dreieichenhain bei Frankfurt/Main.

3.2.2. Reagenzien

NAD = Nicotinamidadenindinucleotid, Reinheitsgrad II, 98%

NADH = Nicotinamidadenindinucleotid, reduziert, Reinheitsgrad II, 98%, Dinatriumsalz

NADP = Nicotinamidadenindinucleotidphosphat, Reinheitsgrad II 98%, Dinatriumsalz

D-Glucose-6-phosphat, Dinatriumsalz

D-Glucose-6-phosphatdehydrogenase, Grad II (Suspension)

Diese Substanzen wurden von der Fa. Boehringer Mannheim bezogen.

Aceton p.a.

Äthanol p.a.

Ethylacetat p.a.

Benzol p.a.

iso-Buthanol p.a.

Chloroform p.a.

Dichlormethan p.a.

n-Heptan p.a.

n-Hexan p.a.

Toluol p.a.

D-Glucose (Monohydrat)

DC-Alufohlen Kieselgel 60 F254 (20 x 20 cm, Schichtdicke 0,2mm)

Diese Materialien wurden von der Fa. Merck, Darmstadt, bezogen. Szintillationsflüssigkeit (Rotiszint 22, bestehend aus PPO, POPOP, Triton x 100 und Toluol; Fa. Roth, Karlsruhe) und andere Chemikalien wurden von der Apotheke der klinischen Universitätsanstalten München geliefert.

3.2.3. Inkubationsmedium

Den Angaben von Krebs und Ringer entsprechend (54), wurde folgendermaßen vorgegangen.

1. Stammlösung wird aus 100 ml 154 mM (9,00 g/l) NaCl-,
4 ml 154 mM (11,50 g/l) KCl-,
3 ml 110 mM (16,15 g/l) $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ -,
und 1 ml 154 mM (31,30 g/l) $\text{MgCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ -
Lösung hergestellt.

2. Phosphatpuffer: Zur Herstellung einer 100 mM Lösung werden
1,780 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ in 90 ml Aqua bidest.
gelöst. Ein pH von 7,4 wird durch Zugabe von
1n HCl eingestellt; anschließend wird mit
Aqua bidest. auf 100 ml aufgefüllt.

3. Inkubationslösung: Hierzu werden 50,6 ml Stammlösung und 9,4 ml
Phosphatpuffer zusammengegeben.

4. Inkubationsmedium: Je ml Inkubationslösung wird an Cofaktoren
zugegesetzt:

NAD	0,2 mg
NADH	0,2 mg
NADP	0,2 mg
D-Glucose	1,0 mg
D-Glucose-6-Phosphat	0,3 mg
D-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	0,0035 ml

3.2.4. Apparate und Hilfsgeräte

Analysenwaage, Typ 2405

Fa. Sartorius, Göttingen

Beta-Szintillationszähler, Typ BF 5000

Fa. Berthold, Wildbad

Dünnschichtscanner II, Typ LB 2723

Fa. Berthold, Wildbad

Homogenisator, Typ 853202 mit Glaszylinder und Teflonkolben

Fa. Braun Melsungen

pH-Meter DIGI 510

Fa. WTW, Weilheim

Polyäthylengefäße (10 ml)

Fa. Packard, Frankfurt/Main

UV-Lampe, Quarzlampen GmbH

Original Hanau

Warburg'scher Schüttelinkubator, Modell V35

Fa. Braun Melsungen

Zentrifuge, Typ Rotanta K

Fa. Hettich

3.3. Experimentelles Vorgehen

3.3.1. Gewebe

a. Gewebeschnitte

Für die Experimente mit Gewebeschnitten kamen nur Nebennieren zur Verwendung, bei denen intra operationem eine Infiltration bzw. ein Befall durch Metastasen ausgeschlossen worden war und die makroskopisch keine Besonderheiten zeigten.

Das Gewebe wurde sofort nach Entnahme in eisgekühlte isotonische Kochsalzlösung verbracht und unverzüglich weiterverarbeitet. Anhängendes Fett- und Bindegewebe und - bei Phäochromocytompräparaten - Markgewebe wurden entfernt. Das Restgewebe wurde sodann mit Einmalkalpellen zu 0,2 - 0,3 cm dicken Schnitten von 100 mg Gewicht präpariert.

Für die Inkubationsexperimente mit den verschiedenen Substraten wurden folgende Präparate verwendet:

- Präparat I: hyperplastische Nebennierenrinde (Klin.: Cushing-Syn.)
Inkubationen mit a) ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron (Versuch 1)
b) ^3H -11-Desoxycortisol (Versuch 2)
- Präparat II: Nebennierenrinde eines entfernten Phäochromocytons
Inkubationen mit a) ^3H -11-Desoxycortisol (Versuch 3)
b) ^3H -11-Desoxycorticosteron (Versuch 7)
- Präparat III: Nebenniere von Tumornephrektomie
Inkubationen mit a) ^3H -11-Desoxycortisol (Versuch 4)
b) ^3H -11-Desoxycorticosteron (Versuch 8)
- Präparat VI: Nebenniere von Tumornephrektomie
Inkubationen mit ^3H -Corticosteron (Versuch 11)
- Präparat VII: Nebenniere von Nierentransplantation
Inkubationen mit ^3H -Corticosteron (Versuch 12)
- Präparat VIII: Nebenniere von Tumornephrektomie
Inkubationen mit ^3H -Corticosteron (Versuch 13)

- Präparat IX: Nebennierenrinde eines entfernten Phäochromocytoms
Inkubationen mit ^3H -Corticosteron (Versuch 14)

b. Gewebekomogenate

Für die Experimente mit Gewebekomogenaten wurde eingefrorenes Nebennierengewebe verwendet. Dieses war sofort nach der operativen Entfernung bei -40°C eingefroren worden. Zum Zeitpunkt der Weiterverarbeitung betrug das Alter der Präparate 6 Monate (Präparat IV) bzw. 2 Jahre (Präparat V).

Das eingefrorene Gewebe wurde aufgetaut und anhängendes Fett- und Bindegewebe unter Eiskühlung entfernt. Anschließend wurde das Restgewebe gewogen.

Die folgenden Präparate wurden verwendet:

- Präparat IV: Nebennierenrindenadenom (klin.: Conn-Syndrom)
Inkubationen mit a) ^3H -11-Desoxycortisol (Versuch 5)
b) ^3H -11-Desoxycorticosteron (Versuch 9)
- Präparat V: Nebennierenrindenadenom (klin.: Cushing-Syndrom)
Inkubationen mit a) ^3H -11-Desoxycortisol (Versuch 6)
b) ^3H -11-Desoxycorticosteron (Versuch 10)

Für die Bereitstellung der Gewebeproben sei an dieser Stelle folgenden Herren gedankt:

Herrn Prof. Dr. G. Staehler, Herrn Prof. Dr. C. Chaussy und Herrn Prof. F. J. Marx, Urologische Klinik und Poliklinik der Universität München (Direktor: Prof. Dr. E. Schmiedt)

Herrn Prof. Dr. H. Deneke, Chirurgische Klinik der Universität München (Direktor: Prof. G. Heberer)

3.3.2. Inkubation

a. Gewebeschnitte

Nebennierenschnitte von jeweils 100 mg Gewicht wurden mit ^3H -markierten Steroiden und verschiedenen Mengen Ketoconazol inkubiert. Im einzelnen wurde wie folgt vorgegangen:

200 mg Ketoconazol, 376 μmol entsprechend, wurden in 400 ml Aqua bidest. gegeben. Mittels eines elektrischen Rührers wurde eine Suspension hergestellt. Hiervon wurden 3-4 Stunden vor Inkubationsbeginn verschiedene Volumina in Polyäthylengefäße gegeben. Dem wurden 10-15 min vor Inkubationsbeginn 2 ml Inkubationsmedium zugefügt. Schließlich wurden Nebennierenschnitte von je 100 mg Gewicht eingebracht. Die Inkubation wurde durch die Zugabe Tritium-markierter Steroide, gelöst in 0,02 ml Äthanol, gestartet. Die Proben wiesen damit folgende Zusammensetzung auf:

Na^+	151,6 mM
K^+	4,810 mM
Ca^{2+}	2,577 mM
Mg^{2+}	1,203 mM
Cl^-	164,0 mM
HPO_4^{2-}	15,67 mM
NAD	0,294 mM
NADH	0,268 mM
NADP	0,238 mM
D-Glucose	5,046 mM
D-Glucose-6-Phosphat	0,986 mM
D-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	0,007 mg
Nebennierengewebe:	100 mg
^3H -17- α -Hydroxyprogesteron	23 pmol oder
^3H -11-Desoxycortisol	19-34 pmol oder
^3H -11-Desoxycorticosteron	31-44 pmol oder
^3H -Corticosteron	20-22 pmol

Ketoconazol

2,5 mg/l = 4,7 μ M oder

5,0 mg/l = 9,4 μ M oder

10 mg/l = 18,8 μ M oder

20 mg/l = 37,6 μ M oder

40 mg/l = 75,2 μ M.

Die Inkubation erfolgte bei 37°C unter Luftatmosphäre im Warburgschen Schüttelthermostaten bei einer Schüttelfrequenz von 100/min. Nach zwei Stunden wurden die Gefäße bei -20°C bis zur weiteren Aufarbeitung eingefroren.

b. Gewebehomogenate

Zunächst wurde Nebennierengewebe in 3 ml Inkubationsmedium pro 100 mg Gewebe unter Eiskühlung homogenisiert. Jeweils 3 ml Homogenatsuspension wurden in die Polyäthylengefäße eingebracht. Bezüglich der Ketoconazol- und Substratzugabe wurde, wie unter a. angegeben, vorgegangen. Unter Luftatmosphäre wurden die Homogenate bei 37°C eine (Versuche 6 u. 10) bzw. zwei Stunden (Versuche 5 u. 9) inkubiert. Bis zur weiteren Aufarbeitung wurden sie bei -20°C eingefroren.

3.3.3. Extraktion der Metabolite

Innerhalb einer Woche nach der Inkubation wurden die Proben aufgearbeitet. Dazu wurden sie bei 0°C aufgetaut. Die Ansätze mit Gewebemhomogenat wurden direkt der Extraktion unterworfen. Hingegen wurden die Inkubate mit Gewebeschnitten zunächst in Glaskolben zur Homogenisierung gegeben. Nach zweimaligem Ausspülen der Inkubationsgefäße mit jeweils 1 ml Aqua bidest. wurde unter Eiskühlung homogenisiert.

Als Indikatoren zur Wiederfindungsbestimmung ("Tracer") wurden den Proben nun folgende ^{14}C -markierten Steroide, in Äthanol gelöst, zugesetzt:

- Inkubationsversuche mit ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron:
 ^{14}C -17-alpha-Hydroxyprogesteron, ^{14}C -Cortisol
- Inkubationsversuche mit ^3H -11-Desoxycortisol:
 ^{14}C -Cortisol
- Inkubationsversuche mit ^3H -11-Desoxycorticosteron:
 ^{14}C -11-Desoxycorticosteron
- Inkubationsversuche mit ^3H -Corticosteron:
 ^{14}C -Corticosteron, ^{14}C -Aldosteron

Unmittelbar nach Zugabe der internen Standards wurden die Homogenate in Schütteltrichter mit Chloroform gegeben. Die Glaskolben bzw. Inkubationsgefäße wurden nun zweimal mit jeweils 1 ml Aqua bidest. nachgespült.

Durch zweimaliges Ausschütteln mit je 10 ml Chloroform wurde nun extrahiert, wobei die wässrigen Phasen verworfen wurden. Die Chloroformphasen hingegen wurden im Wasserbad bei 35-40°C mit nachgereinigtem Stickstoff zur Trockene eingengt.

3.3.4. Flüssigkeitsverteilung

Die Extrakte wurden mit dreimal 1 ml n-heptangesättigtem Methanol aufgenommen und einer Flüssigkeitsverteilung zwischen n-heptangesättigtem Methanol und methanolgesättigtem n-Heptan unterworfen (V/V 5:1). Um nach der weiteren Aufarbeitung die radioaktiv markierten Metabolite unter UV-Licht auf den Dünnschichtfolien lokalisieren zu können, wurden nicht markierte Steroide, in Methanol gelöst, zugegeben. Die Heptanphasen, die Sterole und Lipide enthielten (55), wurden verworfen, die Methanolphasen mit den Corticosteroiden hingegen im Wasserbad bei 35-40°C mit nachgereinigtem Stickstoff zur Trockene gebracht.

3.3.5. Dünnschichtchromatographie

Zur dünn-schicht-chromatographischen Trennung wurden die Methanol-extrakte mit zweimal 0,1 ml Methanol-Dichlormethan (1:1) aufgenommen und in je 2,5 cm Entfernung vom unteren und seitlichen Rand auf 20 x 20 cm große Dünnschichtfolien aufgetragen. Unter Verwendung je zwei unterschiedlicher Dünnschichtsysteme wurde eine zweidimensionale Trennung vorgenommen. Für die verschiedenen Inkubationsversuche wurden folgende Systeme eingesetzt:

-Inkubationen mit ^3H -17- α -Hydroxyprogesteron: Systeme zur Trennung von 17- α -Hydroxyprogesteron, 11-Desoxycortisol, Cortison und Cortisol:

1. Aceton: Benzol (1:1) (72)
2. n-Heptan: Benzol: Äthylactat (1:1:4) (98)

-Inkubationen mit ^3H -11-Desoxycortisol: Systeme zur Trennung von 11-Desoxycortisol, Cortison und Cortisol:

1. Aceton: Benzol (1:1)
2. n-Heptan: Benzol: Äthylactat (1:1:4)

-Inkubationen mit ^3H -11-Desoxycorticosteron: Systeme zur Trennung von 11-Desoxycorticosteron, Corticosteron, 18-Hydroxycorticosteron, 18-Hydroxydesoxycorticosteron und Aldosteron:

1. Aceton: Benzol (1:1)
2. n-Heptan: Benzol: Äthylacetat (1:1:4) (Versuche 7 und 8)
2. Dichlormethan: EtAc: Methanol (85:15:3) (Versuche 9 und 10) (94)

-Inkubationen mit ^3H -Corticosteron: Systeme von Trennung von Corticosteron, 18-Hydroxycorticosteron und Aldosteron:

Versuche 11 und 12

1. n-Heptan: Toluol: Aceton (1:1:3)
2. n-Hexan: iso-Butanol: Chloroform (1:2:4)

Versuch 13

1.Aceton:Benzol (1:1)

2.n-Heptan:Benzol:Äthylacetat (1:1:4)

Versuch 14

1.Aceton:Benzol (1:1)

2.n-Hexan:iso-Buthanol:Chloroform (1:2:4)

Nach der Auftrennung wurden die Steroidzonen im UV-Licht markiert und durch Standardchromatogramme den einzelnen Metaboliten zugeordnet. Mindestens eine Dünnschichtfolie jeder der oben angeführten Kombinationen an Dünnschichtsystemen wurde mittels Dünnschichtscanner (Geschwindigkeit: 1200 mm/h, Blende 2,5) auf die Aktivitätsverteilung untersucht.

Die Zonen wurden ausgekratzt und die Steroide extrahiert. Dazu wurde das Kieselgel mit 1 ml Methanol-Dichlormethan (1:1) versetzt, aufgeschüttelt und bei 3000 U/Minute zentrifugiert. Darauf wurde der Überstand abpipettiert und in ein Szintillationsgefäß gegeben. Dieser Extraktionsvorgang wurde jeweils dreimal durchgeführt. Die resultierenden 3 ml Steroidextrakt wurden im Wasserbad unter Stickstoffstrom zur Trockene eingengt, bei dem Versuch 14 wurde jeweils ein Aliquot des isolierten Aldosterons einer weiteren Dünnschicht mit Aceton:Benzol (1:1) unterworfen und wie angegeben extrahiert.

3.3.6. Radioaktivitätsmessung und Berechnung

Zur Radioaktivitätsmessung wurden die Steroidextrakte mit 8 ml Szintillationsflüssigkeit unter Schütteln aufgenommen. Im Beta-szintillationszähler wurden die Proben dann 10 bzw. 20 Minuten bei der folgenden Kanaleinstellung gemessen:

Kanal A: 460-693, "preset count" 1 M

Kanal B: 38-278, "preset count" 1 M

Kanal C: 0-1000, "preset count" 1 M

Die Anordnung der Kanalgrenzen wurde damit so gewählt, daß im Kanal A eine ausschließliche Bestimmung der ^{14}C -Impulse erreicht wurde. Im Kanal B dagegen wurde neben den ^3H -Zerfällen (Zählausbeute: 30,1 %) auch ein Teil der ^{14}C -Aktivität miterfaßt, im Durchschnitt ca. 10%. Dieser Streueffekt konnte jeweils aus dem Verhältnis der Impulszahlen im Kanal A und im Kanal B bei der Bestimmung der eingesetzten Traceraktivität errechnet werden. Die im Kanal B gemessenen Zählraten für ^3H -markierte Steroide, deren ^{14}C -markierte Analoge als Indikatoren zur Wiederfindungsbestimmung mitgeführt wurden, wurden deshalb nach folgender Formel korrigiert:

$$\text{cpmB}' = \text{cpmB} - \text{cpmA} \times T^3\text{H} / T^{14}\text{C}$$

(cpmB' = korrigierte Impulsrate für den Kanal B;

cpmB = im Kanal B gemessene Impulsrate;

cpmA = im Kanal A gemessene Impulsrate;

$T^3\text{H}$ = im Kanal B gemessene Aktivität des internen Standards;

$T^{14}\text{C}$ = im Kanal A gemessene Aktivität des internen Standards)

Des weiteren war eine Korrektur der Zählraten im Kanal B für ^3H -11-Desoxycortisol notwendig. Im Kanal A wurden nämlich Impulszahlen von 400-2000 gemessen, obwohl in den betreffenden Versuchen nur ^{14}C -Cortisol, nicht jedoch ^{14}C -11-Desoxycortisol eingesetzt worden war.

Demzufolge wurden hier ein Teil des ^{14}C -Cortisols im Kanal A und dementsprechend ein Teil des ^3H -Cortisols im Kanal B mitgemessen. Es wurden deshalb die Impulsraten für 11-Desoxycortisol (S) folgendermaßen korrigiert:

$$\text{ScpmB}' = \text{ScpmB} - \text{ScpmA} \times \text{FcpmB} / \text{FcpmA}$$

(ScpmB' = korrigierte Impulsrate von Kanal B für 11-Desoxycortisol;

ScpmB = im Kanal B gemessene Impulsrate für 11-Desoxycortisol;

ScpmA = im Kanal A gemessene Impulsrate für 11-Desoxycortisol;

FcpmB = im Kanal B gemessene Impulsrate für Cortisol;

FcpmA = im Kanal A gemessene Impulsrate für Cortisol)

Aus den gemessenen bzw. korrigierten Impulsraten konnten die wahren ^3H -Werte über die prozentuale Wiederfindung (Wf.) errechnet werden, die mit Hilfe der internen Standards bestimmt wurde. Es ergibt sich somit:

$$3\text{H} = \text{cpmB} \times 100 / \text{Wf}$$

(3H = wahre ^3H -Werte;

cpmB = gemessene bzw. korrigierte Impulsrate für Kanal B;

Wf = prozentuale Wiederfindung)

Mit Hilfe der wahren Tritiumwerte, der Zählausbeute und der spezifischen Aktivitäten der zur Inkubation verwendeten Steroide konnte damit die absolute Menge der jeweiligen Metabolite errechnet werden.

Zur Berechnung der bei den Inkubationen eingesetzten ^3H -Aktivitäten wurde bei den Versuchen 1-10 jeweils ein Aliquot von 0,1 ml (I cpmB) aus den homogenisierten Proben entnommen. Deren Volumen betrug 4 ml (Schnitte) bzw. 3 ml (Homogenate). Damit ergab sich die jeweilige Substratmenge als das 40- bzw. 30-Fache der durchschnittlichen Aktivität der Aliquots, wobei die Zählausbeute im ersten Falle 27,7% im zweiten 28,4% betrug. Bei den Versuchen 11-14 wurde die Substrataktivität direkt gemessen.

3.4. Methodenkritische Anmerkungen

3.4.1. Inkubationsbedingungen

a. Gewebeschnitte

Nebennierenschnitte von 100 mg Gewicht wurden in 2ml Krebs-Henseleit-Ringer-Phosphatpuffer über zwei Stunden inkubiert. Die Versuchsbedingungen entsprachen denen, die auch von Sinterhauf et al. verwendet wurden (98). Diese zeigten in Experimenten mit Schnitten frischen Gewebes, daß eine gute Korrelation zwischen dem Substratumsatz in vitro und dem Corticosteroidsekretionsmuster und der Sekretionskapazität bei Normalpersonen in vivo besteht. Gleiches fanden auch Bailey et al. bei Versuchen mit Nebennierenschnitten (9).

In den hier durchgeführten Versuchen wurden neben Nebennierenpräparaten, die bei Phäochromocytomexstirpationen und Tumornephrektomien gewonnen wurden, auch hyperplastische Gewebe verwendet (Versuche 1 + 2). Wie hierzu nachgewiesen worden ist, bestehen keine Unterschiede in der Cortisolbiosynthese pro Gewichtseinheit zwischen normalem und hyperplastischem Gewebe (9, 69, 99).

b) Gewebekomogenate

Nebennierenhomogenate von 100 mg Gewebe in je 3 ml Krebs-Henseleit-Ringer-Phosphatpuffer wurden eine bzw. zwei Stunden inkubiert. Die Proben enthielten ein NADPH-regenerierendes System, da sämtliche hier untersuchten Stoffwechselschritte NADPH-abhängig sind und sich dadurch eine gewisse Reaktivierung der Enzyme erreichen läßt (27, 98). Bei den verwendeten Präparaten handelte es sich um bei -40°C über ein halbes (Präparat IV) bzw. zwei Jahre (Präparat V) eingefrorene Nebennierenrindenadenome, wobei dem ersten klinisch ein Conn-, dem zweiten ein Cushing-Syndrom entsprach. Dazu ist anzumerken, daß Conn-Tumoren zur Synthese bedeutender Mengen von Cortisol und Corticosteron befähigt sind (9, 76). Bei Adenomen vom Cushing-Typ unterscheidet sich die Bildungsrate von Cortisol und Corticosteron, bezogen auf die Gewichtseinheit, nicht von der normalen Gewebes, es wird allerdings von solchen Adenomen kein Aldosteron gebildet (9, 69).

Dagegen wird die Corticosteroidsynthese in vitro erheblich durch die Homogenisierung beeinträchtigt (98). Dies zeigt sich Sinterhauf et al. zufolge u.a. in einem deutlichen Abfall der 11 β -Hydroxylierungsrate. Darüberhinaus geht das Einfrieren der Gewebe über mehrere Monate vor der Inkubation mit einer weiteren Aktivitätseinbuße dieser enzymatischen Umsetzung einher. Dem entsprach in den hier durchgeführten Versuchen eine signifikant geringere Umsetzung von ^3H -11-Desoxycortisol zu ^3H -Cortisol bzw. von ^3H -11-Desoxycorticosteron zu ^3H -Corticosteron durch die Homogenate im Vergleich zu den Schnitten frischen Nebennierengewebes (s. Tabelle 1).

	Cortisol			Corticosteron	
	a	b		a	b
Versuch 2	560	74			
Versuch 3	943	72	Versuch 7	1340	110
Versuch 4	620	70	Versuch 8	1100	98
Versuch 5	294	33	Versuch 9	570	65
Versuch 6	25	2,8	Versuch 10	21	4,0

Tabelle 1

Die Ausbeute an ^3H -Cortisol bzw. ^3H -Corticosteron bei Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 2, 3, 4, 7, 8) und Nebennierenhomogenaten (Versuche 5, 6, 9, 10) mit ^3H -11-Desoxycortisol bzw. ^3H -11-Desoxycorticosteron. a = cpm $\times 10^3$; b = % der eingesetzten Substratmenge.

3.4.2. Substratmengen

Zu je 100 mg Nebennierengewebe in 2 ml bzw. 3 ml Pufferlösung wurden 19-34 pmol ^3H -11-Desoxycortisol, 31-44 pmol ^3H -11-Desoxycorticosteron bzw. 20-22 pmol ^3H -Corticosteron zugesetzt. Im Vergleich dazu lagen die von verschiedenen Autoren gefundenen Konzentrationen der entsprechenden endogenen Steroide bei 80-420 pmol 11-Desoxycortisol, 100-380 pmol 11-Desoxycorticosteron und 340-3470 pmol Corticosteron je 100 mg normales Nebennierengewebe. Bei hyperplastischen Nebennieren betrug die Konzentration an endogenem 11-Desoxycortisol 160-510 pmol/ 100 mg Gewebe (12, 46, 58, 99).

Die Umsatzraten, die bei den einzelnen Versuchen gemessen wurden, hingen somit auch vom Ausmaße der Verdünnung der exogenen Substrate durch unbekannte Mengen entsprechender endogener Steroide ab. Die Bildungsraten von ^3H -Cortisol aus ^3H -11-Desoxycortisol, von ^3H -Corticosteron aus ^3H -11-Desoxycorticosteron und von ^3H -18-Hydroxycorticosteron und ^3H -Aldosteron aus ^3H -Corticosteron lassen deshalb keine Rückschlüsse auf die Enzymkinetik zu. Es ist außerdem zu berücksichtigen, daß endogenes Corticosteron in ungefähr zehnmal größeren Mengen vorliegt als endogenes 11-Desoxycortisol und 11-Desoxycorticosteron. In Versuchen mit Nebennieren von Ratten bzw. Rindern wurde in Übereinstimmung damit gezeigt, daß auf Grund der großen Mengen an endogenem Corticosteron exogenes Corticosteron weniger effektiv als exogenes 11-Desoxycorticosteron umgesetzt wird (15, 47). Damit läßt sich zumindest teilweise die im Vergleich zur 11 β -Hydroxylierung von 11-Desoxycorticosteron geringe 18-Hydroxylierungsrate von Corticosteron erklären (s. Tab. 1 u. 2). Daneben sind sicherlich auch Unterschiede bezüglich der Enzymmengen bzw. -aktivitäten zu berücksichtigen.

	18-Hydroxycorticosteron + Aldosteron	
	a	b
Versuch 11	72,3	10
Versuch 12	43,8	6,6
Versuch 13	107	16
Versuch 14	39,4	6,0

Tabelle 2

Ausbeute an ^3H -18-Hydroxycorticosteron + ^3H -Aldosteron bei Inkubationen von Nebennierengewebe mit ^3H -Corticosteron. a = cpm $\times 10^3$; b = % der eingesetzten Substrataktivität.

3.4.3. Dünnschichtchromatographie

Die durch Ausschütteln extrahierten, radioaktiv markierten Steroide ließen sich mittels Dünnschichtchromatographie durch ihre unterschiedlichen Laufstrecken im Verhältnis zur Lösungsmittelfront, ausgedrückt im R_f -Wert, trennen. Lokalisiert wurden die markierten Steroide durch Zumischung größerer Mengen nicht radioaktiv markierter Analoga auf Grund deren Fluoreszenzverhaltens (s. Tabelle 3).

	Aceton: Benzol (1:1)	n-Heptan: Benzol: EtAc (1:1:4)	Dichlor- methan: EtAc:MeOH (85:15:3)	n-Heptan: Toluol: Aceton (1:1:3)	n-Hexan: Buthanol: Chloroform (1:2:4)
17-OH-P	0,66	0,40	----	----	----
S	0,53	0,25	----	----	----
E	0,46	0,18	----	----	----
F	0,38	0,16	----	----	----
DOC	0,67	0,31	0,48	----	----
18-OH-DOC(a)	0,59	0,19	0,25	----	----
18-OH-DOC(b)	0,43	0,11	0,13	----	----
B	0,53	0,14	0,16	0,43	0,59
A	0,35	0,07	0,07	0,29	0,49
18-OH-B(a)	0,43	0,08	0,09	0,34	0,39
18-OH-B(b)	0,25	0,04	0,03	0,22	0,30

Tabelle 3

R_f -Werte: Wanderungsgeschwindigkeiten der Steroide relativ zur Lösungsmittelfront in verschiedenen dünnschichtchromatographischen Systemen.

Sämtliche Kombinationen von dünnsschichtchromatographischen Systemen wurden mit einem Dünnschichtscanner auf die Verteilung der Aktivitätszonen untersucht. Diese stimmten in allen Fällen mit den im UV-Licht gefundenen überein, zusätzliche wurden nicht gefunden.

Die an Position 18 hydroxylierten Steroide 18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) und 18-Hydroxydesoxycorticosteron (18-OH-DOC) liegen in jeweils zwei interkonvertiblen Zustandsformen vor, die sich in der Polarität und damit den Wanderungsgeschwindigkeiten in den verschiedenen Dünnschichtsystemen unterscheiden (28, 32). Die polarere Form b entspricht dabei der, in der 18-OH-B bzw. 18-OH-DOC als nicht radioaktiv markierte Reinsubstanzen bezogen wurden. Aus dieser entsteht unter bestimmten Bedingungen die weniger polare Form a. Da sich beim einfachen Dünnschichtchromatographieren der Reinsubstanzen 18-OH-B bzw. 18-OH-DOC jeweils nur eine Zone fand, entsprechend der Form b, wurden Inkubationen mit den stummen Steroiden, wie oben angegeben, durchgeführt, jedoch ohne den Zusatz von Nebennierengewebe. Nach der Dünnschichtchromatographie ließ sich dann im UV-Licht eine zusätzliche Zone ausmachen. Diese besaß einen geringeren Abstand zu Lösungsmittelfront und fluoreszierte wesentlich weniger stark als die erste Zone. Die dabei isolierte Substanz dürfte damit der weniger polaren Form a entsprechen. Das relativ schwache Fluoreszieren zeigt aber, daß nur geringe Mengen der Ausgangssubstanz umgewandelt wurden. Letzteres stimmt mit den Ergebnissen überein, die Damasco et al. bei Inkubationen von Nebennierengewebe mit beiden Formen von 1,2-³H-18-Hydroxycorticosteron fanden. Das Verhältnis von Form a zu Form b betrug nach 90 minütiger Inkubation mit der Form a ungefähr 1:10, mit der Form b 1:35 (28). Damit dürfte der größte Teil des in den Inkubationen gebildeten 18-Hydroxycorticosterons in der Form b vorgelegen haben, deren Menge der Berechnung der Steroidsynthese zugrunde gelegt wurde. Da beide Formen interkonvertibel sind, ergibt sich aus der Vernachlässigung der Form a ein systematischer Fehler, der nur die absoluten Werte, nicht jedoch den Vergleich der 18-OH-B-Synthese unter verschiedenen Konzentrationen von Ketoconazol beeinflusst.

3.4.4. Kontrollansätze

Zu jedem Versuch wurden Kontrollinkubationen ohne Nebennierengewebe unter den oben angegebenen Versuchsbedingungen vorgenommen. Ein Anteil von weniger als 1% der eingesetzten Substrataktivität fand sich dann in den Zonen der jeweiligen Metabolite (s. Tabelle 4).

Wird die Umsetzung des Substrates gehemmt, in diesem Falle also die Transformation von ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron (17-OH-P) zu ^3H -11-Desoxycortisol (S), von ^3H -11-Desoxycortisol zu ^3H -Cortisol (F), von ^3H -11-Desoxycorticosteron (DOC) zu ^3H -Corticosteron (B) und von ^3H -Corticosteron zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) und zu ^3H -Aldosteron (A), kommt es zu einem Anstieg der in den Metabolitenzonen wiedergefundenen Substrataktivitäten. Dies wirkt sich aber dahingehend aus, daß eine mögliche Hemmwirkung von Ketoconazol auf den Substratumsatz als eher zu gering berechnet wird.

Die Kontrollversuche zeigten darüberhinaus, daß die in Versuch 10 bei den Inkubationen von Cortisol-sezernierendem Adenomgewebe mit ^3H -11-Desoxycorticosteron gefundenen Aktivitäten in den Aldosteronzonen völlig auf eine Verunreinigung zurückzuführen ist. Somit wurde, wie zu erwarten war (s. Kap. 3.4.1.), kein Aldosteron gebildet.

Versuch	Substrat	Metab.	a	b	c	d
1	17OHP	S	0,243	1740	37	37
		F	0,237	1700	0,32	0,36
2	S	F	0,692	5260	0,94	1,7
3	S	F	0,692	8360	0,89	2,8
4	S	F	0,692	5670	0,91	1,9
5	S	F	0,692	5810	2,0	17
6	S	F	0,692	5830	23	50
7	DOC	B	0,279	3150	0,24	0,43
		A	0,204	2305	4,5	9,2
8	DOC	B	0,279	2917	0,27	0,41
		18OHB	0,243	2540	3,1	20
		A	0,204	2130	6,0	18
9	DOC	B	0,266	2165	0,38	2,5
		A	0,252	2050	22	32
10	DOC	B	0,266	2700	13	37
		A	0,252	2560	100	100
11	B	18OHB	0,290	2100	6,7	26
		A	0,729	5290	13	23
12	B	18OHB	0,290	1920	30	100
		A	0,729	4830	13	18
13	B	18OHB	0,236	1560	5,0	8,6
		A	0,713	4700	6,2	12
14	B	18OHB	0,366	2410	12	27
		A	0,369	2430	13	16

Tabelle 4

Kontrollansätze: Die in den Metabolitenzonen von 11-Desoxycortisol (S), Cortisol (F), Corticosteron (B), 18-Hydroxycorticosteron (18OHB) und Aldosteron (A) wiedergefundenen Substrataktivitäten an ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron (17OHP), ^3H -11-Desoxycortisol, ^3H -11-Desoxycorticosteron (DOC) bzw. ^3H -Corticosteron bei Inkubationen ohne Gewebe. a = in % der eingesetzten Substrataktivitäten; b = in cpm; c = in % der Metabolitenaktivitäten der Ansätze ohne Ketoconazol; d = in % der jeweils geringsten Metabolitenaktivität eines Versuches.

3.4.5. Berechnung

Da die verschiedenen Steroide auf den Dünnschichtplatten eine unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit besitzen und daher verschieden große Strecken zurücklegen, differieren die Verlustraten der Metabolite nach dem Auftragen auf die Dünnschichtfolien: Mit zunehmender Wanderungsgeschwindigkeit nimmt aufgrund der Schmier-effekte die Wiederfindung ab. Es ergibt sich daher für die Berechnung der "wahren ^3H -Werte" mittels interner Standards folgendes Problem: Ist die Wanderungsgeschwindigkeit des "Tracers" kleiner als die der übrigen Steroide - so bei den Inkubationen mit 11-Desoxycortisol - werden die wahren Tritiumwerte systematisch zu klein berechnet. Es wird daher die Summe der wahren Tritiumwerte der Steroide kleiner sein als die bei der Inkubation eingesetzte ^3H -Aktivität. Dagegen wird die Summe größer sein, wenn der "Tracer" den größten R_f -Wert besitzt, wie es bei den Inkubationen mit 11-Desoxycorticosteron der Fall war. Es betrug nun die durchschnittliche Wiederfindungsrate für ^{14}C -Cortisol 61% und für ^{14}C -11-Desoxycorticosteron 51%. Da die R_f -Werte der einzelnen Steroide in der Reihenfolge 11-Desoxycorticosteron, 11-Desoxycortisol, Corticosteron, Cortisol abfallen (s. Kap. 3.4.3.), dürfte sich hier ein Fehler von maximal 10% ergeben. Es handelt sich hierbei um einen systematischen, d.h. bei allen Dünnschichten auftretenden, Fehler, der nur die absoluten Werte beeinflusst, nicht jedoch das Verhalten relativ zum Ausgangswert unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

4. ERGEBNISSE

4.1. Inkubationsversuche mit ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron

Nebennierenschnitte von 100 mg Gewicht wurden in KHR-Phosphatpuffer mit 23 pmol 1,2- ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron (17-OH-P) und wasserstoffübertragenden Coenzymen 2 Stunden inkubiert (Versuch 1).

Bei den Ansätzen ohne Ketoconazol wurden von der verwendeten Substrataktivität 0,65% zu ^3H -11-Desoxycortisol (S) und 74% zu ^3H -Cortisol (F) umgesetzt, was Syntheseraten von 0,70 fmol ^3H -11-Desoxycortisol/mg Gewebe/h bzw. 80 fmol ^3H -Cortisol/mg Gewebe/h entspricht. Das Mengenverhältnis von nicht umgesetztem Substrat 17-OH-P zum Metaboliten ^3H -11-Desoxycortisol betrug 1:1,8, das der Metabolite ^3H -11-Desoxycortisol und ^3H -Cortisol zueinander 1:120.

Bei einer Ketoconazolkonzentration von 5 mg/l kam es zu einem Anstieg der Werte für 17-OH-P, ^3H -11-Desoxycortisol und ^3H -Cortisol auf das 1,9 fache, das 17 fache bzw. das 1,1 fache der Ausgangsaktivitäten. Daraus resultierte ein Rückgang des 17-OH-P/S-Quotienten auf 24% bei Zunahme des Verhältnisses S/F auf das 18 fache der Basalwerte.

Die weitere Zugabe von Ketoconazol bis zu einer Konzentration von 40 mg/l rief eine konzentrationsabhängige Erhöhung der Aktivitäten an 17-OH-P und ^3H -11-Desoxycortisol bis auf das doppelte bzw. das 35 fache und eine Verminderung der Umsetzung zu ^3H -Cortisol bis auf 90% der Ausgangswerte hervor. Hierdurch ging, bezogen auf die Basalansätze, das Verhältnis 17-OH-P/S auf 9,1% zurück, während der Quotient S/F auf das 81 fache anstieg.

		Ketoconazol (mg/l)				
Versuch 1		Basal	5,0	10	20	40
17-OH-P	a	0,51	0,96	0,84	0,89	1,0
	b	1,0	1,9	1,7	1,8	2,0
S	a	0,70	12	9,8	12	24
	b	1,0	17	14	18	35
F	a	80	89	77	88	72
	b	1,0	1,1	0,97	1,1	0,90
17-OH-P/S	a	0,55	0,13	0,15	0,072	0,050
	b	1,0	0,24	0,27	0,13	0,091
S/F	a	0,0085	0,15	0,13	0,14	0,69
	b	1,0	18	16	16	81

Tabelle 5

Inkubationen von Nebennierenschnitten mit ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron (17-OH-P) ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen: Die nicht metabolisierten Substratmengen (17-OH-P) und die Umsatzraten zu ^3H -11-Desoxycortisol (S) und ^3H -Cortisol (F) in fmol/mg Gewebe/h (a) bzw. relativ zu den jeweiligen Basalwerten (b) und die 17-OH-P/S- und S/F-Quotienten absolut (a) bzw. relativ zu den jeweiligen Basalwerten (b).

4.2. Inkubationsversuche mit ^3H -11-Desoxycortisol

100 mg Nebennierengewebe wurde als Schnitte (Versuche 2, 3 und 4) bzw. als Homogenat Inkubationen mit 19 - 34 pmol 1,2- ^3H -11-Desoxycortisol (S) unterworfen. Diese erfolgten in KHR-Puffer in Gegenwart wasserstoffübertragender Coenzyme über eine (Versuch 6) bzw. zwei Stunden (Versuche 2 - 5).

Bei den Ansätzen ohne Ketoconazol fand sich in den Zonen von Cortisol bei den Schnitten 74%, 72% und 70%, bei den Homogenaten 2,8% und 33% der eingesetzten Substrataktivitäten. Dies entspricht einer Syntheserate von 72, 121 und 79 bzw. 38 und 6,4 fmol ^3H -Cortisol/mg Gewebe/h. Die Mengenverhältnisse aus nicht umgesetztem Substrat S und dem Metaboliten F lagen bei 1:130, 1:15 und 1:39 bzw. bei 1,5:1 und 33:1 (s. Tab. 6).

Unter einer Ketoconazolkonzentration von 2,5 mg/l fielen die ^3H -Cortisolwerte auf 56% und 92% derjenigen der Basalansätze oder blieben unverändert, die ^3H -11-Desoxycortisolwerte nahmen dagegen auf das 1,3 - 2,4 fache zu. Hieraus resultierte ein Anstieg des S/F-Quotienten auf das 2,2 - 2,7 fache (s. Abb. 2, 3 u. 4).

Im Bereich zwischen 2,5 und 20 mg/l Ketoconazol zeigte sich eine konzentrationsabhängige Hemmung der Umsetzung zu ^3H -Cortisol bis auf 12 - 56% der Ausgangswerte bei Anstieg der Aktivitäten an ^3H -11-Desoxycortisol auf das 1 - 92 fache und des S/F-Quotienten auf das 2 - 162 fache. Bei den Ansätze mit Ketoconazolkonzentrationen von 40 mg/l ließen sich keine darüberhinausgehenden Hemmeffekte nachweisen.

		Ketoconazol (mg/l)					
Versuch		Basal	2,5	5,0	10	20	40
2	S	0,56	---	9,2	27	52	41
	F	72	---	57	50	40	40
	S/F	0,0079	---	0,16	0,53	1,3	1,0
3	S	7,8	19	36	64	96	---
	F	121	110	100	70	38	---
	S/F	0,068	0,18	0,35	5,2	8,1	---
4	S	2,0	4,6	9,9	31	50	---
	F	79	82	84	69	39	---
	S/F	0,026	0,057	0,12	0,49	1,4	---
5	S	57	76	88	95	94	---
	F	38	21	12	7,6	4,4	---
	S/F	1,5	3,7	7,6	13	19	---
6	S	210	---	190	190	190	180
	F	6,4	---	3,7	3,1	3,0	3,0
	S/F	33	---	51	61	64	61

Tabelle 6

Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 2, 3 und 4) und -homogenaten (Versuche 5 und 6) mit 1,2-³H-11-Desoxycortisol (S) ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen: Die nicht metabolisierten Substratmengen (S) und die Umsatzraten zu ³H-Cortisol (F) in fmol/mg Gewebe /h und die S/F-Quotienten.

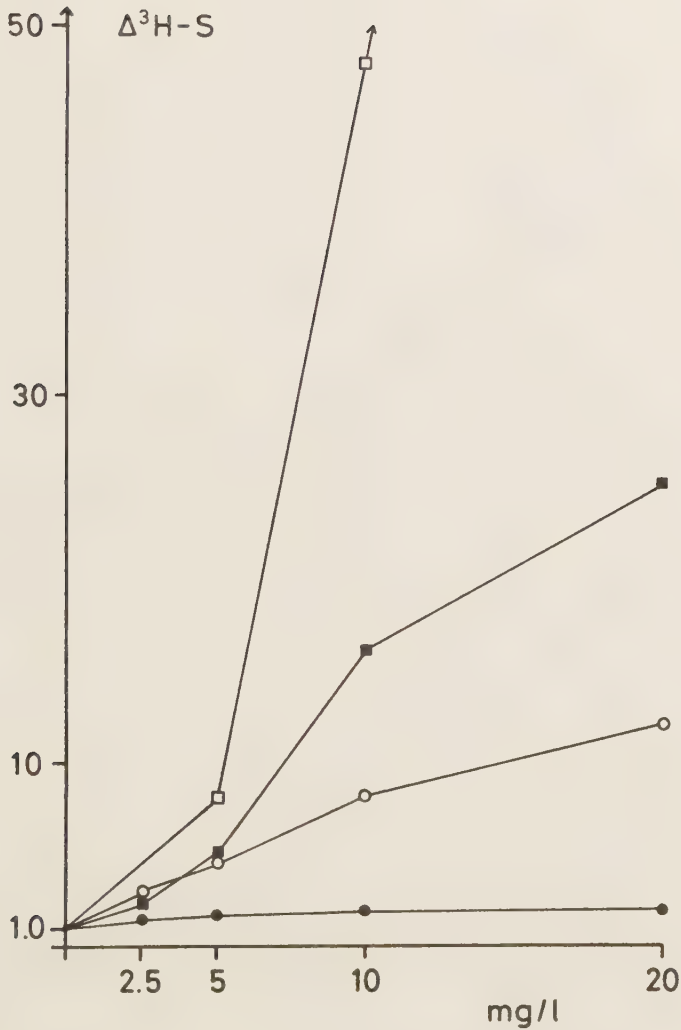


Abbildung 2

Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 2, 3 und 4) und -homogenaten (Versuch 5) mit 1,2-³H-11-Desoxycortisol (S) ohne Ketoconazol (Basal) und unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen: Die nicht metabolisierten Substratmengen (S) relativ zu den jeweiligen Basalwerten (Basal= 1,0).

□ = Versuch 2; ○ = Versuch 3; ■ = Versuch 4; ● = Versuch 5

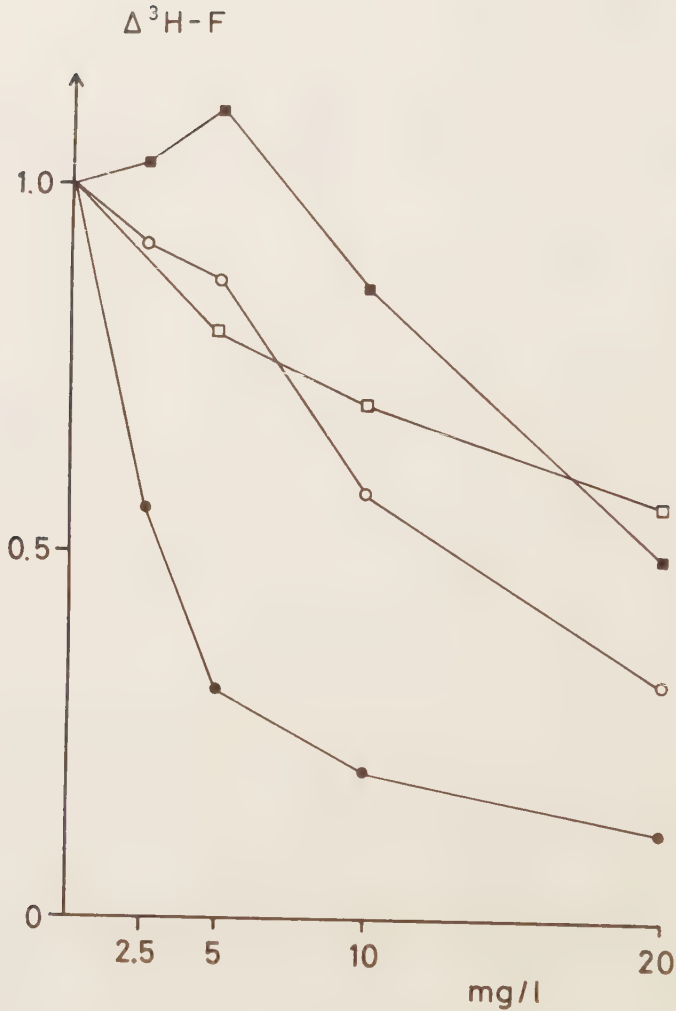


Abbildung 3

Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 2, 3 und 4) und -homogenaten (Versuch 5) mit 1,2-³H-11-Desoxycortisol (S) ohne Ketoconazol (Basal) und unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen: Die Umsatzraten zu ³H-Cortisol (F) relativ zu den jeweiligen Basalwerten (Basal= 1,0).

□ = Versuch 2; ○ = Versuch 3; ■ = Versuch 4; ● = Versuch 5

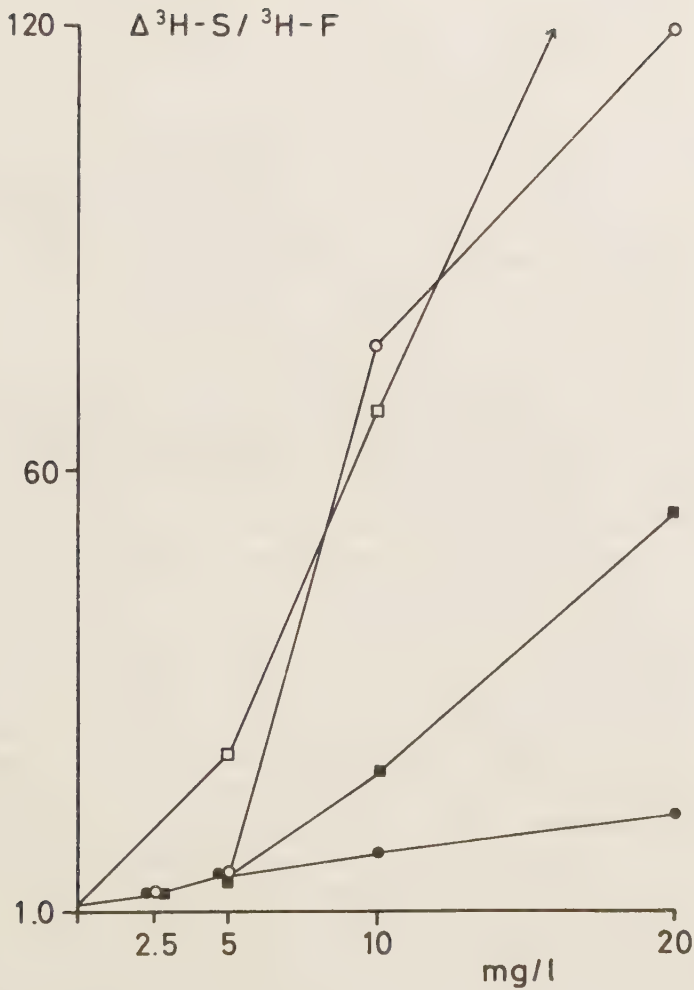


Abbildung 4

Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 2, 3 und 4) und -homogenaten (Versuch 5) mit 1,2- ^3H -11-Desoxycortisol (S) ohne Ketoconazol (Basal) und unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen und Bestimmung der nicht metabolisierten Substratmengen (S) und der Umsatzraten zu ^3H -Cortisol (F): Die S/F-Quotienten relativ zu den jeweiligen Basalwerten (Basal= 1,0).

□ = Versuch 2; ○ = Versuch 3; ■ = Versuch 4; ● = Versuch 5

4.3. Inkubationsversuche mit ^3H -11-Desoxycorticosteron

Um den Einfluß von Ketoconazol auf die Konversion von 1,2- ^3H -11-Desoxycorticosteron (DOC) zu ^3H -Corticosteron, ^3H -18-Hydroxycorticosteron und ^3H -Aldosteron zu untersuchen, wurde 100 mg Nebennierengewebe als Schnitte (Versuche 7 und 8) bzw. als Homogenat (Versuche 9 und 10) mit 31 - 44 pmol DOC und wasserstoffübertragenden Coenzymen in KHR-Phosphatpuffer eine (Versuch 10) bzw. zwei Stunden (Versuche 7, 8 und 9) inkubiert und aufgearbeitet.

Unter Basalbedingungen, den Ansätzen ohne Ketoconazol, wurden in den Zonen von Corticosteron (B) 100% und 98% der gewählten Substrataktivitäten bei den Versuchen mit Schnitten bzw. 65% und 4% bei denen mit Homogenaten nachgewiesen. Die Bildungsraten lagen damit bei 200 und 240 bzw. 100 und 7,6 fmol ^3H -Corticosteron/mg Gewebe/h. Nicht umgesetztes Substrat DOC und der Metabolit B fanden sich dementsprechend in den Verhältnissen 1:7,9 und 1:310 bzw. 1:3,0 und 89:1 (s. Tabelle 7).

Eine Ketoconazolkonzentration von 2,5 mg/l bewirkte einen Rückgang der Umsetzung von DOC zu B auf 55 - 90% der Basalwerte, während sich ein Anstieg der Werte für DOC auf das 1,1 - 4,2-fache und des Verhältnisses DOC/B auf das 1,4 - 5,4 fache zeigte (s. Abb. 5, 6, 7).

Mit steigenden Ketoconazolkonzentrationen ging darüberhinaus die Transformation von DOC zu B konzentrationsabhängig bis auf 15 - 64% der Ausgangswerte bei 20 mg/l zurück unter Anstieg der Aktivitäten an DOC auf das 1 - 34 fache und der DOC/B-Quotienten auf das 2,6 - 72 fache. Die Versuche mit 40 mg/l erbrachten demgegenüber keine weitere Hemmung des Substratumsatzes mehr.

Bei den Versuchen 7 und 8 zeigte sich neben der Interferenz von Ketoconazol mit der Konversion von DOC zu B eine Hemmung der Umsetzung zu ^3H -Aldosteron (A). Diese betrug unter Basalbedingungen 9,2 bzw. 6,4 fmol/mg Gewebe/h, wobei sich in den Aldosteronzonen 4,5% bzw. 3,4% der verwendeten Substrataktivitäten fanden. Die Zugabe von Ketoconazol bewirkte eine konzentrationsabhängige Reduktion der Konversion von DOC zu A auf 81% bzw. 76% der Ausgangswerte bei Ansätzen mit 2,5 mg/l und

auf 60% bzw. 34% bei solchen mit 20 mg/l Ketoconazol (s. Tabelle 8). Dabei wurde die Umsetzung von DOC zu ^3H -Aldosteron im Versuch 8 unter steigenden Ketoconazolkonzentrationen stärker vermindert als die zu ^3H -Corticosteron, was einen konzentrationsabhängigen Anstieg des B/A-Quotienten bis auf das 8,2 fache der Basalwerte unter 20 mg/l Ketoco-
nazol zur Folge hatte. Dieser Effekt ließ sich allerdings im Versuch 7 nicht nachweisen.

Darüberhinaus konnte in Versuch 8 eine Beeinträchtigung der Kon-
version von DOC zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) durch Ketoco-
nazol aufgezeigt werden. Bei den Ansätzen ohne Ketoconazol wurden 7,8%

		Ketoconazol (mg/l)					
Versuch		Basal	2,5	5,0	10	20	40
7	DOC	3,3	14	41	32	90	---
	B	240	210	200	220	130	---
	DOC/B	0,13	0,68	0,24	0,17	0,78	---
8	DOC	1,5	1,6	7,0	8,9	50	---
	B	200	180	190	180	130	---
	DOC/B	0,0032	0,0044	0,017	0,022	0,23	---
9	DOC	34	69	87	100	120	---
	B	100	56	43	28	16	---
	DOC/B	0,33	1,5	2,3	3,8	8,1	---
10	DOC	330	---	330	310	320	310
	B	7,6	---	3,6	3,0	2,8	2,6
	DOC/B	89	---	89	110	120	120

Tabelle 7

Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 7 und 8) und -homo-
genaten (Versuche 9 und 10) mit 1,2- ^3H -11-Desoxycorticosteron (DOC)
ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazol-
konzentrationen: Die nicht metabolisierten Substratmengen (DOC) und
die Umsatzraten zu ^3H -Corticosteron (B) in fmol/mg Gewebe/h und die
DOC/B-Quotienten.

der Substrataktivität zu 18-OH-B umgesetzt, was einer Syntheserate von 15 fmol ^3H -18-Hydroxycorticosteron/mg Gewebe/h entspricht. Durch Ketoconazol konnte ein konzentrationsabhängiger Rückgang dieser Transformation auf 69% der Ausgangswerte bei 2,5 mg/l und auf 16% bei 20 mg/l Ketoconazol hervorgerufen werden (s. Tabelle 8). Gleichzeitig stieg der B/18-OH-B-Quotient auf das 1,4 fache bei 2,5 mg/l und auf das 3,4 fache bei 20 mg/l Ketoconazol. Damit wurde die Konversion von ^3H -11-Desoxycorticosteron zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron stärker durch Ketoconazol gehemmt als die zu ^3H -Corticosteron.

			Ketoconazol (mg/l)				
Versuch			Basal	2,5	5,0	10	20
8	B	a	200	180	190	180	130
		b	1,0	0,90	0,96	0,93	0,64
	18-OH-B	a	15	10	6,7	5,8	2,3
		b	1,0	0,69	0,46	0,4	0,16
	B/18-OH-B	a	15	20	31	28	50
		b	1,0	1,4	2,1	1,9	3,4
	A	a	6,4	4,8	3,5	2,2	2,2
		b	1,0	0,76	0,56	0,35	0,34
	B/A	a	39	39	60	73	320
		b	1,0	0,99	1,5	1,9	8,2

Tabelle 8

Inkubationen von Nebennierenschnitten mit 1,2- ^3H -11-Desoxycorticosteron (DOC) ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen (Versuch 8): Die Umsatzraten zu ^3H -Corticosteron (B), ^3H -18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) und ^3H -Aldosteron in fmol/mg Gewebe/h (a) bzw. relativ zu den jeweiligen Basalwerten (b) und die B/18-OH-B- und B/A-Quotienten absolut (a) bzw. relativ zu den jeweiligen Basalwerten (b).

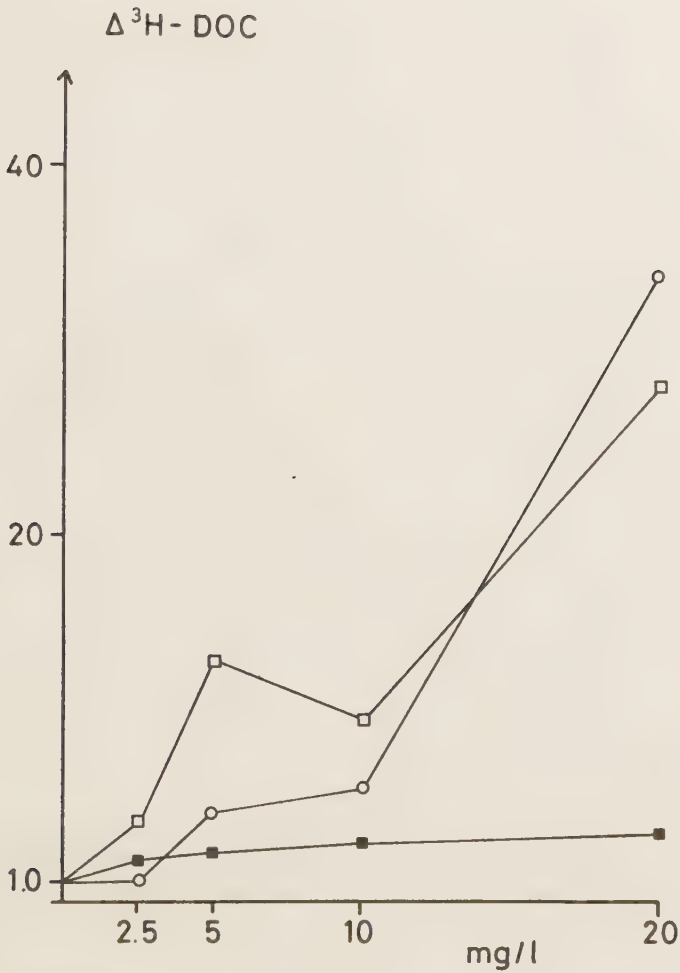


Abbildung 5

Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 7 und 8) und -homogenaten (Versuch 9) mit 1,2- ^3H -11-Desoxycorticosteron (DOC) ohne Ketoconazol (Basal) und unter verschiedenen Ketoconazol-konzentrationen: Die nicht metabolisierten Substratmengen (DOC) relativ zu den jeweiligen Basalwerten (Basal= 1,0).

□ = Versuch 7; ○ = Versuch 8; ■ = Versuch 9



Abbildung 6

Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 7 und 8) und -homogenaten (Versuch 9) mit 1,2-³H-11-Desoxycorticosteron (DOC) ohne Ketoconazol (Basal) und unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen: Die Umsatzraten zu ³H-Corticosteron (B) relativ zu den jeweiligen Basalwerten (Basal= 1,0).

□ = Versuch 7; ○ = Versuch 8; ■ = Versuch 9

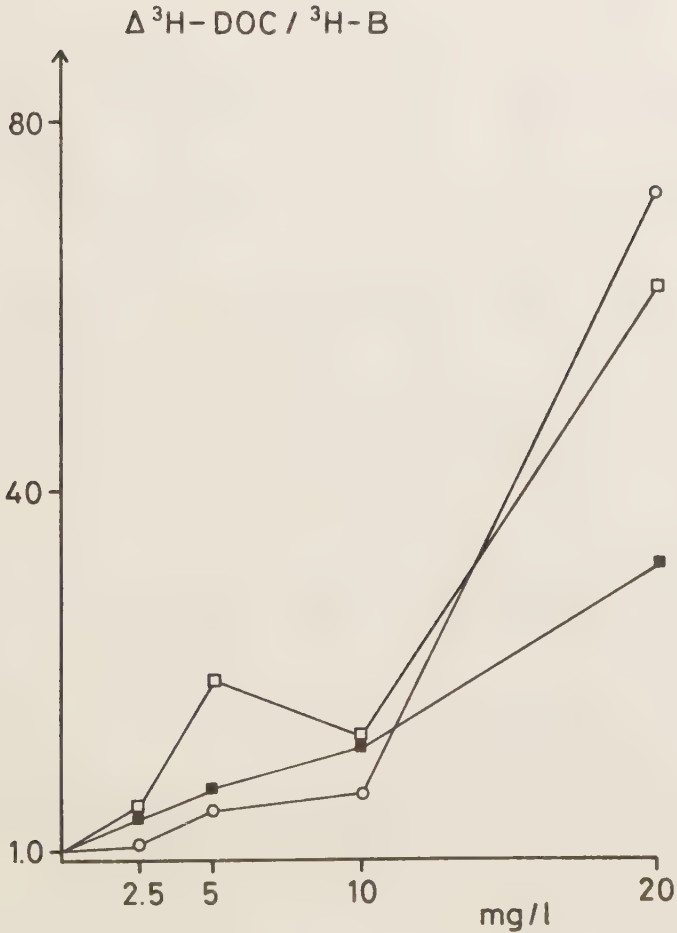


Abbildung 7

Inkubationen von Nebennierenschnitten (Versuche 7 und 8) und -homogenaten (Versuch 9) mit $1,2\text{-}^3\text{H}$ -11-Desoxycorticosteron (DOC) ohne Ketoconazol (Basal) und unter verschiedenen Ketoconazol-konzentrationen und Bestimmung der nicht metabolisierten Substratmengen (DOC) und der Umsatzraten zu ^3H -Corticosteron (B): Die DOC/B-Quotienten relativ zu den jeweiligen Basalwerten (Basal= 1,0).

□ = Versuch 7; ○ = Versuch 8; ■ = Versuch 9

4.4. Inkubationsversuche mit ^3H -Corticosteron

Die im Vergleich zur Hemmung der Konversion von 11-Desoxycorticosteron zu Corticosteron überproportional starke Reduktion der Synthese von 18-Hydroxycorticosteron und teilweise auch von Aldosteron gab Anlaß, die Metabolisierung von Corticosteron (B) zu 18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) und Aldosteron (A) genauer zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurden Nebennierenschnitte von 100 mg mit 20 - 22 pmol 1,2- ^3H -Corticosteron und Wasserstoff übertragenden Coenzymen 2 Stunden in KHR-Phosphatpuffer inkubiert und aufgearbeitet (Versuche 11 - 14).

Bei den Ansätzen ohne Ketoconazol wurden 1,0 - 4,7% der verwendeten Substrataktivitäten zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron umgesetzt. Die Syntheseraten betrugen damit 0,98 - 4,7 fmol ^3H -18-Hydroxycorticosteron/mg Gewebe/h, die Mengenverhältnisse von nicht umgesetztem Substrat B zu 18-OH-B 12:1 - 66:1 (s. Tabelle 9). Die Zugabe von Ketoconazol bewirkte eine konzentrationsabhängige Hemmung der Konversion von B zu 18-OH-B auf 53 - 96% der Basalwerte bei 2,5 mg/l und auf 26 - 58 % bei 20 mg/l Ketoconazol (s. Abbildungen 8, 9 und 10). Demgegenüber zeigten die ^3H -Corticosteronwerte keine systematischen Veränderungen, während die B/18-OH-B-Quotienten von dem 1 - 2,8 fachen des Ausgangswertes bei 2,5 mg bis auf das 1,9 - 5,5 fache bei 20 mg/l Ketoconazol anstiegen.

In den Zonen von Aldosteron fanden sich unter Basalbedingungen 2,8 - 11% der eingesetzten Substratmengen. Die Umsatzraten zu ^3H -Aldosteron beliefen sich entsprechend auf 2,8 - 11 fmol/mg Gewicht/h, die Mengenverhältnisse von nicht umgesetztem Substrat B zu A auf 4,9:1 - 30:1 (s. Tabelle 10). Es konnte jedoch hier keine systematische Beeinflussung der Konversion zu ^3H -Aldosteron bzw. der B/A-Quotienten durch Ketoconazolkonzentrationen von 2,5 - 20 mg/l nachgewiesen werden.

Versuch		Ketoconazol (mg/l)				
		Basal	2,5	5,0	10	20
11	B	69	74	76	73	74
	18-OH-B	4,7	2,5	1,8	1,2	1,3
	B/18-OH-B	16	32	46	110	84
12	B	55	60	58	60	53
	18-OH-B	0,98	0,78	0,50	0,44	0,29
	B/18-OH-B	66	90	130	150	240
13	B	54	50	55	62	59
	18-OH-B	4,7	4,5	3,1	4,4	2,7
	B/18-OH-B	12	12	17	14	22
14	B	69	72	73	79	70
	18-OH-B	3,1	1,7	2,3	1,7	1,4
	B/18-OH-B	23	64	35	46	61

Tabelle 9

Inkubationen von Nebennierenschnitten mit 1,2-³H-Corticosteron (B) ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen (Versuche 11 - 14): Die nicht metabolisierten Substratmengen (B) und die Umsatzraten zu ³H-18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) in fmol/mg Gewebe/h und die B/18-OH-B-Quotienten.

			Ketoconazol (mg/l)				
Versuch		Basal	2,5	5,0	10	20	
11	B	a	69	74	76	73	74
		b	1,0	1,1	1,1	1,1	1,1
	A	a	6,1	4,7	5,4	3,5	8,2
		b	1,0	0,76	0,88	0,57	1,3
	B/A	a	14	24	14	37	10
		b	1,0	1,8	1,0	2,7	0,73
12	B	a	55	60	58	60	53
		b	1,0	1,1	1,0	1,1	0,96
	A	a	5,6	4,0	7,0	5,6	5,3
		b	1,0	0,71	1,3	1,0	0,94
	B/A	a	11	15	9,6	11	10
		b	1,0	1,5	0,91	1,1	0,96
13	B	a	54	50	55	62	59
		b	1,0	0,92	1,0	1,2	1,1
	A	a	11	13	11	5,8	12
		b	1,0	1,1	1,0	0,51	1,1
	B/A	a	4,9	4,0	4,8	11	5,2
		b	1,0	0,81	0,98	2,2	1,1
14	B	a	69	72	73	79	70
		b	1,0	1,1	1,1	1,1	1,0
	A	a	2,8	3,1	4,5	2,8	2,3
		b	1,0	1,1	1,6	0,98	0,83
	B/A	a	30	28	19	38	38
		b	1,0	0,93	0,64	1,3	1,3

Tabelle 10

Inkubationen von Nebennierenschnitten mit 1,2-³H-Corticosteron (B) ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazol-konzentrationen (Versuche 11 - 14): Die nicht metabolisierten Substratmengen (B) und die Umsatzraten zu ³H-Aldosteron (A) in fmol/mg Gewebe/h (a) bzw. relativ zu den jeweiligen Basalwerten (b) und die B/A-Quotienten absolut (a) bzw. relativ zu den jeweiligen Basalwerten (b).

$\Delta^3\text{H-B}$

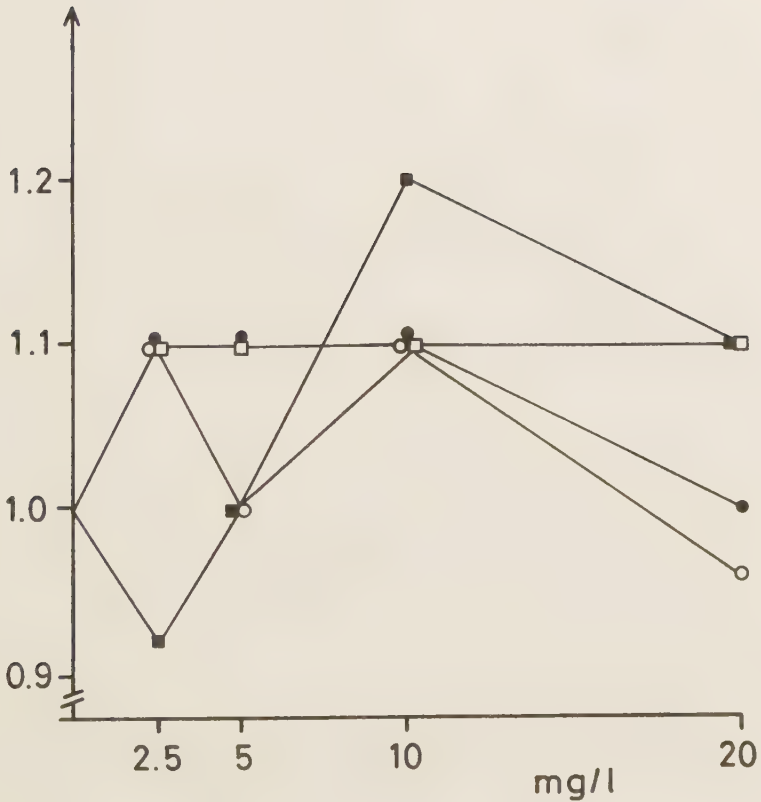


Abbildung 8

Inkubationen von Nebennierenschnitten mit $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Corticosteron (B) ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazol-konzentrationen (Versuche 11 - 14): Die nicht metabolisierten Substratmengen (B) relativ zu den Basalwerten (Basal= 1,0).

□ = Versuch 11; ○ = Versuch 12; ■ = Versuch 13; ● = Versuch 14

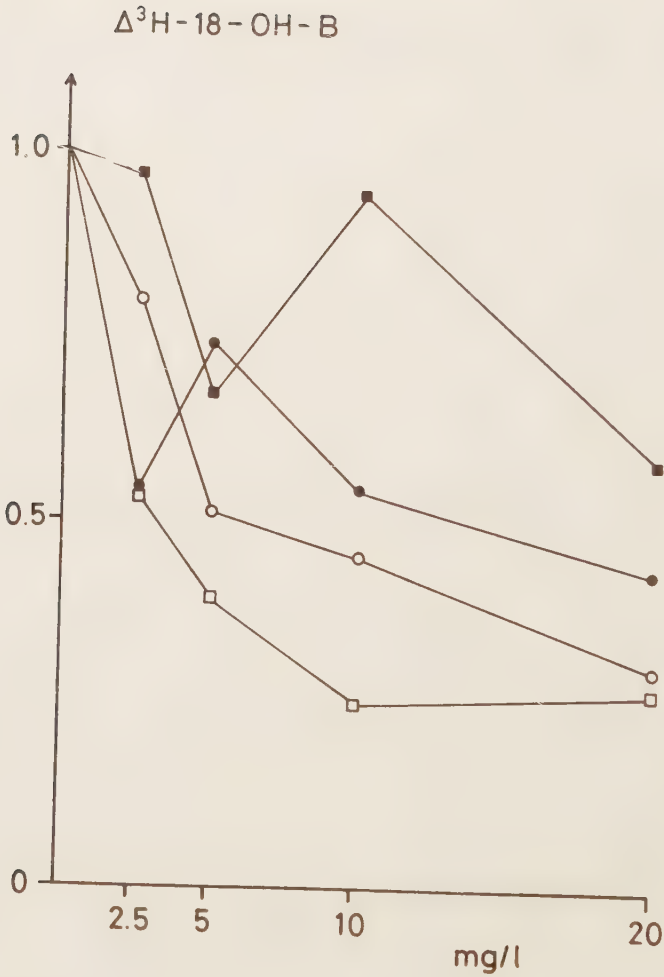


Abbildung 9

Inkubationen von Nebennierenschnitten mit $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Corticosteron (B) ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazol-konzentrationen (Versuche 11 - 14): Die Umsatzraten zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) relativ zu den Basalwerten (Basal = 1,0).

□ = Versuch 11; ○ = Versuch 12; ■ = Versuch 13; ● = Versuch 14

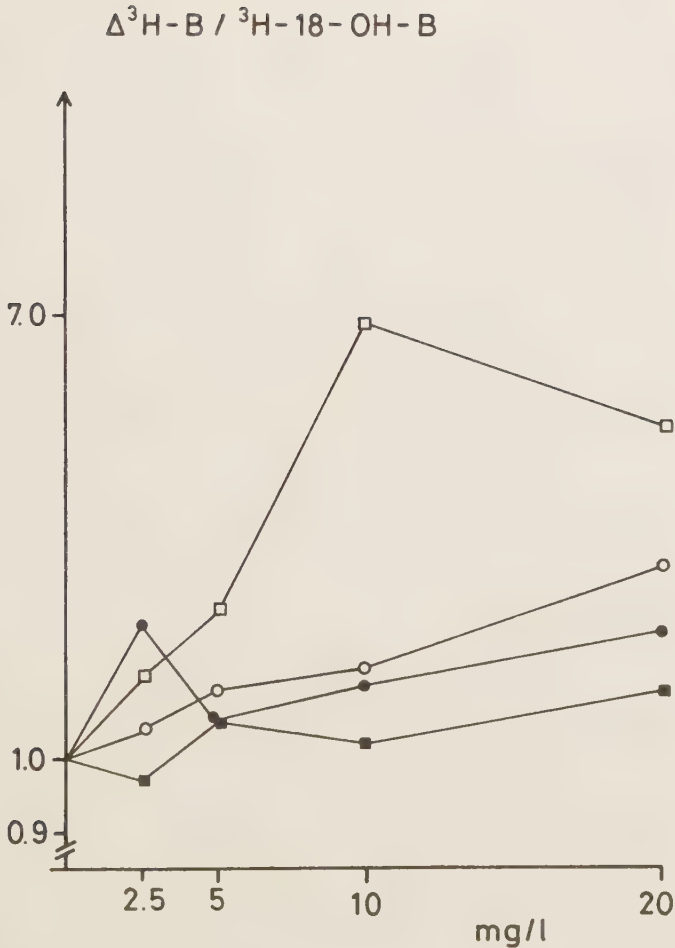


Abbildung 10

Inkubationen von Nebennierenschnitten mit $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Corticosteron (B) ohne Ketoconazol (Basal) und unter vier verschiedenen Ketoconazol-konzentrationen (Versuche 11 - 14) und Bestimmung der nicht metabolisierten Substratmengen (B) und der Umsatzraten zu $^3\text{H-18-Hydro-}$ xycorticosteron (18-OH-B): Die B/18-OH-B-Quotienten relativ zu den jeweiligen Basalwerten (Basal=1,0).

□ = Versuch 11; ○ = Versuch 12; ■ = Versuch 13; ● = Versuch 14

5. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Ketoconazol interferiert mit der menschlichen Cortisolsynthese. Pont et al. (1982) und Engelhardt et al. (1983) konnten zeigen, daß durch Ketoconazol bei Gesunden wie auch bei Patienten mit Cushing-Syndromen auf Grund von Nebennierenrindenhyperplasien und -adenomen der Anstieg des Serumcortisols nach ACTH-Gabe reduziert wird (36, 83, 84). Ferner ließ sich bei in vitro Versuchen eine Hemmung der Cortisolsynthese durch Ketoconazol nachweisen (36).

Um herauszufinden, wo Ketoconazol mit der Steroidsynthese interferiert, wurde menschliches Nebennierengewebe mit ^3H -17- α -Hydroxyprogesteron, ^3H -11-Desoxycortisol bzw. ^3H -11-Desoxycorticosteron unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen inkubiert.

17- α -Hydroxyprogesteron wird durch die 21-Hydroxylase, ein microsomales, NADPH- und P450-abhängiges Enzym, das auch Progesteron zu 11-Desoxycorticosteron umsetzt, zu 11-Desoxycortisol transformiert (8, 17, 43, 44, 70, 74). Die Konversion von 11-Desoxycortisol zu Cortisol erfolgt ebenso wie die von 11-Desoxycorticosteron zu Corticosteron durch die 11 β -Hydroxylase, ein mitochondriales, NADPH- und P450-abhängiges Enzym (11, 15, 39, 71, 77, 96, 97).

Die Inkubationen mit ^3H -17- α -Hydroxyprogesteron erbrachten keinen Anhalt für eine signifikante Hemmung der 21-Hydroxylierung zu ^3H -11-Desoxycortisol durch Ketoconazolkonzentrationen von 5-40 mg/l (9,4-75 μM). Dagegen ergab sich durch den Abfall der ^3H -Cortisol bei Anstieg der ^3H -11-Desoxycortisolwerte ein Hinweis auf eine Beeinträchtigung der 11 β -Hydroxylierung von 11-Desoxycortisol zu Cortisol.

Der letztgenannte Syntheseschritt wurde daher durch Inkubationen mit ^3H -11-Desoxycortisol genauer untersucht. Es zeigte sich dabei im Bereich von 2,5 bis 20 mg/l (4,7-38 μM) Ketoconazol ein konzentrationsabhängiger Rückgang der Umsetzung zu ^3H -Cortisol bis auf 12-56% der Ausgangswerte.

Die Hemmung der 11 β -Hydroxylierung der Nebenniere durch Ketoconazol ließ sich auch bei Versuchen mit ^3H -11-Desoxycorticosteron nachweisen. Die Konversion zu ^3H -Corticosteron wurde durch 2,5-20 mg/l (4,7-38 μM) Ketoconazol konzentrationsabhängig bis auf 15-64% der Aus-

gangswerte reduziert.

Es konnte somit eine Hemmung der 11 β -Hydroxylierung von 11-Desoxycortisol und 11-Desoxycorticosteron durch Ketoconazol nachgewiesen werden, wobei die Ketoconazolkonzentrationen von 2,5-20 mg/l therapeutischen Serumspiegeln entsprachen (19, 37, 84, 119).

Welche Bedeutung kommt diesen Ergebnissen bei der Anwendung von Ketoconazol in vivo zu? Engelhardt et al. zeigten in neueren Studien, daß es bei Gesunden wie auch bei Patienten mit Cushing-Syndromen, bedingt durch bilaterale Nebennierenrindenhyperplasien, -adenome bzw. -karzinome, unter Ketoconazoldosen von etwa 1 g/d zu einem starken Anstieg der Serumwerte für 11-Desoxycorticosteron und 11-Desoxycortisol kommt und zu einem leichteren für Corticosteron. Es trat hierbei teilweise ein Abfall der Cortisolspiegel auf. Zugleich wurde auch ein Anstieg der ACTH-Werte auf das 10-100-Fache beobachtet (33, 34). Diese Befunde sprechen dafür, daß der Wirkung von Ketoconazol auf die menschliche Cortisolsynthese die Hemmung der 11 β -Hydroxylierung zugrunde liegt, daß dieser Effekt normalerweise aber durch eine vermehrte hypophysäre ACTH-Sekretion kompensiert werden kann. Daher ist, sofern die Achse Hypothalamus-Hypophyse-Nebennierenrinde intakt ist, unter Ketoconazol keine Nebennierenrindeninsuffizienz zu erwarten, auch wenn, wie hier, die eingesetzten Dosen über den zur Therapie von Mykosen verwendeten Mengen von 200-400 mg/d liegen (87).

Pont et al. zeigten jedoch, daß schon nach 400 mg/d Ketoconazol der Cortisolanstieg nach ACTH-Gabe und z.T. die Cortisolausscheidung im Urin vermindert sind und die ACTH-Werte ansteigen (81, 83). Es ist also schon unter therapeutischen Ketoconazoldosen eine verstärkte ACTH-Sekretion zur Aufrechterhaltung einer normalen Nebennierenrindenfunktion notwendig.

Damit bringt die Anwendung von Ketoconazol die Gefahr einer Nebennierenrindeninsuffizienz bei solchen Patienten mit sich, bei denen die hypophysäre Gegenregulation beeinträchtigt ist. So stellten Engelhardt et al. bei einem Patienten mit einem Cushing-Syndrom auf Grund eines autonomen Adenoms nach Ketoconazol einen reproduzierbaren Abfall des Serumcortisols auf unter 2,5 μ g/l fest (35). Die Gefahr eines Cortisolmangelzustandes könnte ferner nach Beendigung einer langdauernden Glukokortikoidgabe bei noch eingeschränkter ACTH-Sekretionskapazität be-

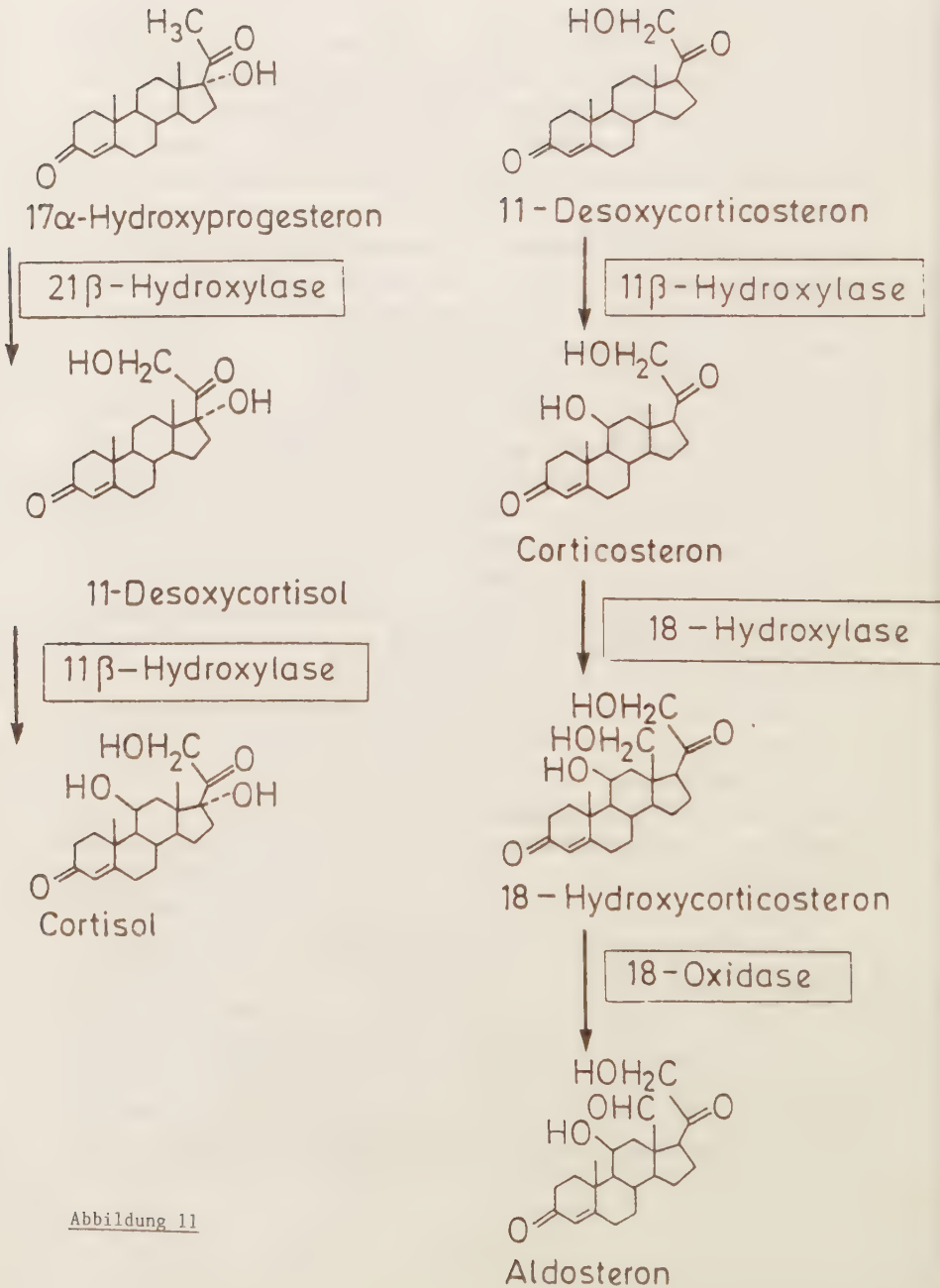


Abbildung 11

bestehen.

Darüberhinaus droht eine Nebennierenrindeninsuffizienz auch bei normaler Hypophysenfunktion durch die Verabreichung sehr hoher Ketoconazoldosen. Pont et al. fanden unter der Gabe von 800-1200 mg/d Ketoconazol einen Rückgang der Cortisolausscheidung im Urin um 50% und bei einem Patienten ein Absinken des Serumcortisolspiegels auf nicht messbare Werte (79, 80). Zur Anwendung kommen solche Ketoconazoldosen u.a. bei der Therapie fortgeschrittener Prostatakarzinome (108, 109). Bei zwei Patienten, die Trachtenberg et al. aus diesem Grunde mit 1,2 g/d Ketoconazol behandelten, fanden sich nach dreimonatiger Therapie Symptome einer adrenalen Unterfunktion (109).

Es bleibt somit festzuhalten, daß die Anwendung von Ketoconazol in hoher Dosierung das Risiko einer gefährlichen Nebennierenrindeninsuffizienz in sich birgt, daß diese bei beeinträchtigter Hypophysenfunktion jedoch schon unter geringeren Ketoconazolmengen eintreten kann.

Inzwischen wurden auch Versuche unternommen, die hemmende Wirkung von Ketoconazol auf die Corticosteroidsynthese bei der Therapie von Krankheitsbildern zu nutzen, die durch erhöhte Glucocorticoidspiegel hervorgerufen werden. Sonino et al. (1985) behandelten 5 Patienten mit einem Morbus Cushing, der nach selektiver transssphenoidaler Hypophysektomie rezidiert war, mindestens zwei Monate lang mit zunächst 800 mg/d, dann mit 600 mg/d Ketoconazol (101). Unter dieser Behandlung kam es zu einem raschen Abfall der Cortisolausscheidung im Urin, in geringerem Maße auch der Serumcortisolwerte. Dabei wurde ein Rückgang der klinischen Symptome beobachtet. Contreras et al. (1985) erzielten bei einem Patienten mit einem Cushing-Syndrom, das durch einen ektopen Nebennierentumor in der Leber hervorgerufen worden war, durch eine von 400 mg/d auf 1 g/d Ketoconazol ansteigende Therapie über 7 Wochen eine deutliche Besserung des Befundes bei Reduktion der Cortisolwerte im Serum und Urin (25).

Sollten sich diese Ergebnisse an einem größeren Krankengut bestätigen, wäre mit Ketoconazol eine Alternative zur Verwendung von Aminoglutethimid bzw. Metyrapon in vergleichbaren Situationen gegeben (78). Diese drei Substanzen unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Angriffspunkte in der Glukokorticoidsynthese wie auch in ihrer Wirkung insbe-

sondere auf den Androgen- und Östrogenstoffwechsel. Aminoglutethimid interferiert mit der Umsetzung von Cholesterin zu Pregnenolon und, in geringerem Maße, mit der 11 β -Hydroxylierung der Nebenniere (21, 31, 52). Darüberhinaus hemmt es die Aromatisierung von Androgenen zu Östrogenen, was unter einer längeren Therapie bei Frauen zu Virilisierungerscheinungen führen kann (22, 91). Der therapeutische Effekt von Metyrapon beruht dagegen vorwiegend auf einer Beeinflussung der 11 β -Hydroxylierung (40, 45). Dabei kann es auf Grund der vermehrten Umsetzung der Vorstufen dieser Reaktion zu Androgenen bei Frauen mit Cushing-Syndromen zu einer Verschlechterung eines bestehenden Hirsutismus kommen (101). Wie oben gezeigt, dürfte die therapeutische Wirkung von Ketoconazol ebenfalls auf einer Hemmung der 11 β -Hydroxylierung beruhen. An Leberzellen konnte zwar ein Antagonismus zwischen Ketoconazol und Glucocorticoiden nachgewiesen werden (57), diesem Effekt dürfte jedoch in vivo keine größere Bedeutung zukommen (101). Im Gegensatz zu Metyrapon supprimiert Ketoconazol zusätzlich die Androgensynthese in den Testes. Dies hat das relativ häufige Auftreten von Gynäkomastie und Impotenz bei Männern zur Folge (82, 93). Hingegen wurde eine positive Beeinflussung eines Hirsutismus, der bei Frauen infolge eines Morbus Cushing aufgetreten war, unter Ketoconazol beschrieben (101). Abgesehen von der wesentlich niedrigeren Inzidenz an sonstigen Nebenwirkungen im Vergleich zu Aminoglutethimid und Metyrapon (25), könnte eine Behandlung eines Hyperkortisolismus mit Ketoconazol besonders bei Frauen Vorteile gegenüber der herkömmlichen Therapie bieten.

Bei den Inkubationen mit ^3H -11-Desoxycorticosteron zeigte sich neben einer Hemmung der 11 β -Hydroxylierung eine konzentrationsabhängige Reduktion der Umsetzung zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron und ^3H -Aldosteron durch 2,5–20 mg/l (4,7–38 μM) Ketoconazol, die den Rückgang der Synthese von ^3H -Corticosteron übertraf. 18-Hydroxycorticosteron (18-OH-B) wird aus Corticosteron unter dem Einfluß der 18-Hydroxylase gebildet und durch die 18-Oxidase zu Aldosteron umgesetzt, wobei es sich jeweils um mitochondriale, NADPH- und P450-abhängige Reaktionsschritte handelt (3, 4, 6, 7, 39, 42, 43, 50, 61, 71, 86). Es ergab sich somit ein Hinweis auf eine Beeinflussung der 18-Hydroxylierung von Corticosteron durch Ketoconazol.

Deshalb wurden Versuche mit ^3H -Corticosteron vorgenommen. Dabei zeigte sich eine konzentrationsabhängige Hemmung der 18-Hydroxylierung zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron durch Ketoconazolmengen von 2,5-20 mg/l (4,7-38 μM) bis auf 27-58% der Ausgangswerte. Dagegen kam es nicht zu einem einheitlichen Abfall der Aldosteronsynthese, wie er bei einem Syntheseweg über 18-OH-B zu erwarten gewesen wäre. Dieser wurde von verschiedenen Autoren in Frage gestellt, da 18-OH-B in vitro in geringerem Ausmaße als Corticosteron zu Aldosteron metabolisiert wird (5, 61, 75, 89). Für einen Syntheseweg über 18-OH-B sprechen jedoch das konstante Verhältnis von 18-OH-B zu Aldosteron unter verschiedenen Bedingungen in vivo und in vitro, die Hemmung der Aldosteronbildung aus radioaktiv markierten Präkursoren durch stummes 18-OH-B und ein Enzymdefekt, der mit erhöhter Corticosteron- und 18-OH-B- und erniedrigter Aldosteronsynthese einhergeht (13, 50, 90, 110, 111, 112, 114, 115, 116). Eine Erklärung für das Fehlen eines konstanten Rückganges der Aldosteronbildung unter Ketoconazol könnte darin liegen, daß Aldosteron nur in der Zona glomerulosa gebildet wird, 18-OH-B hingegen auch in der Zona fasciculata (9, 38, 42, 60, 73, 96, 107, 117). Damit wird aber die Aldosteronsynthese in vitro stark vom Verhältnis von Zona glomerulosa zu Zona fasciculata abhängig. Der Rückgang der Aldosteronbildung bei den Inkubationen mit ^3H -11-Desoxycorticosteron erklärt sich aus der Tatsache, daß hier Präparate verwendet wurden, die Schnitte senkrecht zur Rindenoberfläche erlaubten, womit das genannte Verhältnis nahezu konstant blieb.

Bisher liegen keine Befunde darüber vor, welche Auswirkungen die Interferenz von Ketoconazol mit der 11 β -Hydroxylierung von 11-Desoxycorticosteron und der 18-Hydroxylierung von Corticosteron auf die Synthese von 18-OH-B und Aldosteron in vivo hat. Ein alternativer Stoffwechselweg mit einer Umsetzung von 11-Desoxycorticosteron zu 18-OH-B über 18-Hydroxydesoxycorticosteron (18-OH-DOC) ist in diesem Zusammenhang aus folgenden Gründen ohne Bedeutung. Die Synthese von 18-OH-B aus radioaktiv markierten Vorstufen ließ sich nicht durch stummes 18-OH-DOC hemmen (114). Zudem beträgt beim Menschen die Umsetzung von 11-Desoxycorticosteron zu 18-OH-DOC in vivo und in vitro weniger als 10% derjenigen zu Corticosteron, sie findet im Gegensatz zu Synthese von Aldosteron und 18-OH-B fast ausschließlich in der Zona fascicula

statt und wird durch die 11 β -Hydroxylase katalysiert (16, 48, 65, 66, 67, 74, 86, 92, 96, 112, 116, 120, 121). Letzteres Enzym ist dagegen in vivo wie in vitro Befunden zufolge nicht an der 18-Hydroxylierung von Corticosteron beteiligt (10, 24, 30, 45, 65, 105, 118).

Eine Beeinflussung der Steroidsynthese in vivo durch die Hemmung der 11 β -Hydroxylierung von 11-Desoxycorticosteron und der 18-Hydroxylierung von Corticosteron in vitro durch Ketoconazolkonzentrationen von 2,5-20 mg/l, also therapeutischen Serumspiegeln, ist somit wahrscheinlich. Der Gegenregulation über ACTH dürfte bezüglich der Aldosteronsynthese auf Grund seiner wesentlich schwächeren Wirkung auf die Zona glomerulosa eine geringere Rolle zukommen, als dies beim Cortisolstoffwechsel der Fall ist (42). Größere Bedeutung hat sicherlich die Stimulation der Aldosteronsynthese durch Angiotensin II, das u.a. die Umsetzung von 18-OH-B zu Aldosteron verstärkt (62, 63, 86, 88, 95). Einen signifikanten Einfluß besitzen auch die Elektrolytverhältnisse, da Kalium die Aldosteronbildung fördert, während Natrium den gegenteiligen Effekt hat (14, 53, 63, 64, 68). Daneben wird die Aldosteronsynthese von einer Reihe weiterer Faktoren wie cAMP, Serotonin und Dopamin beeinflusst (20, 23, 27, 42, 102, 103, 104). Die Wirkung von Ketoconazol auf die Synthese von 18-OH-B und Aldosteron in vivo kann somit nicht vorausgesagt werden.

Welche Wertigkeit die Hemmung der 11 β - und der 18-Hydroxylierung der Nebenniere durch Ketoconazol in vitro besitzt, ist z. Zt. nicht abschließend zu beurteilen. Für die Behandlung von Cushing-Syndromen mit Ketoconazol stellt sich die Frage, ob sich ein zufriedenstellender therapeutischer Effekt auch an einer größeren Anzahl von Patienten nachweisen läßt und in welchem Maße es durch die vergleichsweise hohen Dosen an Ketoconazol, die hierbei notwendig sein dürften (25, 101), zu einer Zunahme der Nebenwirkungen kommt. Darüberhinaus bleibt nachzuprüfen, welche Bedeutung Ketoconazol bei der Behandlung von Conn-Syndromen besitzt. Schließlich wäre auch zu klären, ob Ketoconazol mit weiteren Schritten der Steroidsynthese der menschlichen Nebenniere interferiert.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Der Einfluß von Ketoconazol auf die Corticosteroidsynthese der menschlichen Nebenniere wurde *in vitro* untersucht.

Nebennierengewebeschnitte und -homogenate wurden mit ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron, ^3H -11-Desoxycortisol, ^3H -11-Desoxycorticosteron und ^3H -Corticosteron und wasserstoffübertragenden Coenzymen in KHR-Phosphatpuffer inkubiert. Die Metabolite wurden extrahiert, einer Flüssigkeitsverteilung unterworfen und dünnschichtchromatographisch aufgetrennt.

In Konzentrationen, die therapeutischen Serumspiegeln entsprachen, hemmte Ketoconazol die 11 β -Hydroxylierung von 11-Desoxycortisol und 11-Desoxycorticosteron. Die Cortisolsynthese wurde um maximal 44-88% reduziert, die Corticosteronbildung um 36-85%. Im gleichen Konzentrationsbereich interferierte Ketoconazol mit der 18-Hydroxylierung von Corticosteron. Es resultierte eine Hemmung der 18-Hydroxycorticosteronsynthese um maximal 42-74%. Ein signifikanter Einfluß von Ketoconazol auf die 21-Hydroxylierung von 17-alpha-Hydroxyprogesteron zu 11-Desoxycortisol wurde nicht beobachtet.

Diese Ergebnisse erklären ursächlich die *in vivo* erhobenen Befunde, die eine Hemmung der Cortisolsynthese beim Menschen durch Ketoconazol zeigen.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adadevoh, B.K., Engel, L.L., Shaw, D., Gray, C.H.
Metabolism of progesterone-4-¹⁴C by adrenal tissue from
a patient with Cushing's syndrome.
J. Clin. Endocr. 25 (1965) 784-792.
2. Aguilera, G., Catt, K.J.
Loci of action of regulators of aldosterone biosynthesis in
isolated glomerulosa cells.
Endocrinology 104 (1979) 1046-1052.
3. Aupetit, B., Accaire, C., Emeric, N., Vonarx, V., Legrand, J.C.
The final step of aldosterone biosynthesis requires reducing
power. It is not a dehydrogenation.
Biochim. Biophys. Acta 752 (1983) 73-78.
4. Aupetit, B., Antreassian, J., Legrand, J.C.
Caractère enzymatique et localisation subcellulaire de la
réaction de transformation de la 18-hydroxycorticostérone
en aldostérone.
Biochimie 59 (1977) 705-712.
5. Aupetit, B., Aubry-Marais, F., Legrand, J.C.
Comportement comparé de la 18 hydroxycorticostérone de
synthèse et de la 18 hydroxycorticostérone "endogène" dans
la synthèse de l'aldostérone.
Biochimie 59 (1977) 311-321.
6. Aupetit, B., Bastien, C., Legrand, J.C.
Cytochrome P450 et transformation de la 18 hydroxycortico-
stérone en aldostérone.
Biochimie 61 (1979) 1085-1089.

7. Aupetit, B., Toury, R., Legrand, J.C.
Relation between energy metabolism and conversion
of 18-hydroxycorticosterone to aldosterone in
adrenals.
Biochimie 62 (1980) 823-827.
8. Axelrod, L.R., Goldzieher, J.W.
Free steroid biosynthesis from 5-(4-14C)pregnenolone in
normal human adrenal tissue.
Biochim. Biophys. Acta 152 (1968) 391-395.
9. Bailey, R.E., Slade, C.I., Lieberman, A.H., Luetscher, J.A.
Steroid production by human adrenal adenomata and non-
tumorous adrenal tissue in vitro.
J. Clin. Endocr. 20 (1960) 457-465.
10. Baumann, K., Müller, J.
Effect of potassium intake on the final steps of aldosterone
biosynthesis in the rat: I. 18-hydroxylation and 18-hydroxy-
dehydrogenation.
Acta Endocrinologica 69 (1972) 701-717.
11. Baumann, K., Müller, J.
Effect of potassium intake on the final steps of aldosterone
biosynthesis in the rat: II. 11 β -Hydroxylation.
Acta Endocrinologica 69 (1972) 718-730.
12. Biglieri, E.G., Hane, S., Slaton, P.E., Forsham, P.H., Harron,
M.E., Horita, S.
In vivo and in vitro studies of adrenal secretions in Cushing's
syndrome and primary aldosteronism.
J. Clin. Invest. 42 (1963) 516-524.
13. Biglieri, E.G., Schambelan, M., Hirai, J., Chang, B., Brust, N.
The significance of elevated levels of plasma 18-hydroxy-
corticosterone in patients with primary aldosteronism.
J. Clin. Endocr. Metab. 49 (1979) 87-91.

14. Biglieri, E.G., Slaton, P.E., Schambelan, M., Kronfield, S.J.
Hypermineralocorticoidism.
Am. J. Med. 45 (1968) 170-175.
15. Björkheim, I., Karlmar, K.E.
18-Hydroxylation of deoxycorticosteron by reconstituted systems
from rat and bovine adrenals.
Eur. J. Biochem. 51 (1975) 145-154.
16. Björkheim, I., Karlmar, K.E.
Common characteristics of the cytochrome P-450 system involved
in 18- and 11 β -hydroxylation of deoxycorticosterone in rat
adrenals.
J. Lipid Res. 18 (1977) 592-603.
17. Bongiovanni, A.M., Eder, W.
In vitro hydroxylation of steroids by whole adrenal homoge-
nates of beef, normal man, and patients with the adrenogenital
syndrome.
J. Clin. Invest. 37 (1958) 1342.
18. Van der Bossche, H., Willemsens, G., Cools, W., Cornelissen, F.
Lauwers, W.F., van Cutsem, J.M.
In vitro and in vivo effects of the Antimycotic Drug Keto-
conazole on sterol synthesis.
Antimicrob. Agents Chemother. 17 (1980) 922-928.
19. Brass, C., Galgiani, J.N., Blaschke, T.F., Defelice, F.,
O'Reilly, R.A., Stevens, D.A.
Disposition of Ketoconazole, an oral antifungal, in humans.
Antimicrob. Agents Chemother. 21 (1982) 151-158.
20. Campbell, D.J.
Effect of composition of incubation medium on aldosterone and
corticosterone production by isolated rat zona glomerulosa
cells.
J. Endocr. 94 (1982) 211-224.

21. Cash, R., Brough, A.J., Cohen, M.N.P., Satoh, P.S.
Aminoglutethimide (Elipten-Ciba) as an inhibitor of adrenal steroidogenesis: Mechanism of action and therapeutic trial.
J. Clin. Endo. 27 (1967) 1239-1248.
22. Cash, R., Petini, M.A., Brough, A.J.
Ovarian dysfunction associated with an anticonvulsant drug.
JAMA 208 (1969) 1149-1152.
23. Carey, R.M., Sen, S., Dolan, L.M., Malchoff, C.D., Bumpus, F.M.
Idiopathic hyperaldosteronism: a possible role for aldosterone-stimulating factor.
The New England Journal of Medicine 311 (1984) 94-100.
24. Cheng, S.C., Suzuki, K., Sadee, W., Harding, B.W.
Effects of spironolactone, canrenone and canrenoate-K on cytochrome P450, and 11 β - and 18-Hydroxylation in bovine and human adrenal cortical mitochondria.
Endocrinology 99 (1976) 1097-1106.
25. Contreras, P., Altieri, E., Liberman, C., Gac, A., Rojas, A., Ibarra, A., Ravanal, M., Seron-Ferre, M.
Adrenal rest tumor of the liver causing Cushing's syndrome: Treatment with ketoconazole preceding an apparent surgical cure.
J. Clin. Endocr. Metab. 60 (1985) 21-28.
26. Cooper, D.Z., Estabrook, R.W., Rosenthal, O.
The stoichiometry of C21 hydroxylation of steroids by adreno-cortical microsomes.
J. Biol. Chem. 238 (1963) 1320-1323.
27. Creange, J.E., Roberts, S.
Stimulation of steroid C-11 β and C-18 Hydroxylations in rat adrenal homogenates by adenosine 3',5'-phosphate via a mechanism not requiring endogenous precursor, glycogen phosphorylation or NADPH generation.
Steroids Suppl. 11 (1965) 13-28.

28. Damasco, M.C., Lantos, C.P.
The existence of two interconvertible forms of 18-hydroxy-corticosterone: Is one of them an active precursor of Aldosterone?
J. Steroid Biochem. 6 (1975) 69-74.

29. Daneshmed, T.K., Warnock, D.W., Tuner, A., Roberts, C.J.C.
Pharmakinetiks of ketoconazole in normal subjekts.
J. Antimicr. Chemother. 8 (1981) 299-304.

30. Degenhart, H.J., Frankena, L., Visser, H.K.A., Cost, W.S., van Seters, A.P.
Further investigation of a new hereditary defect in the biosynthesis of aldosterone: Evidence for a defect in 18-hydroxylation of corticosterone.
Acta Phys. Pharm. Neerlandica 14 (1966) 88-90.

31. Dexter, R.N., Fishman, L.M., Ney, R.L., Liddle, G.W.
Inhibition of adrenal corticosteroid synthesis by aminogluthimide: Studies of the mechanism of action.
J. Clin. Endocr. 27 (1967) 473-480.

32. Dominguez, O.V.
The presence of two interconvertible forms of 18-hydroxy-11-deoxycorticosterone.
Steroids Suppl. II (1965) 29-49.

33. Engelhardt, D., Dörr, G., Jaspers, C., Knorr, D.
Ketoconazole blocks cortisol secretion in man by inhibition of adrenal 11 β -hydroxylase.
Klinische Wochenschrift 63 (1985) 607-612.

34. Engelhardt, D., Dörr, H.G., Knorr, D.
The influence of ketoconazole on serum levels of cortisol, 11-deoxycortisol, corticosterone and 11-deoxycorticosterone in normals and in patients with Cushing's-syndrome.
Acta Endocrinologica (1984) 115-116.

35. Engelhardt, D., Mann, K., Hörmann, R., Braun, S., Karl, H.J.
Ketoconazole inhibits cortisol secretion of an adrenal adenoma
in vivo and in vitro.
Klinische Wochenschrift 61 (1983) 373-375.
36. Engelhardt, D., Mann, K., Hörmann, R., Jüngst, D., Braun, S.,
Karl, H.J.
The influence of ketoconazole on cortisol secretion in
Cushing's syndrome.
Acta Endocrinologica Congress Stockholm/ Schweden; Advances
Abstracts (1983) 281.
37. Gascoigne, F.W., Barton, G.H., Michaels, M., Meuldermanns, W.,
Heykants, J.
The kinetics of ketoconazole in animals and in men.
Clin. Res. Rev. 1 (1981) 177-187.
38. Giroud, C.J.P., Stachenko, J., Venning, E.H.
Secretion of aldosterone by zona glomerulosa of rat adrenal
glands incubated in vitro.
Proc. Soc. expl. Biol. Med. 92 (1956) 154-158.
39. Greengard, P., Psychoyos, S., Tallan, H.H., Cooper, D.Y.,
Rosenthal, O., Estabrook, R.W.
Aldosterone synthesis by adrenal mitochondria: III. Partici-
pation of cytochrome P-450.
Arch. Biochem. Biophys. 121 (1967) 298-303.
40. Gower, D.G.
Modifiers of steroid-hormone metabolism: A review of their che-
mistry, biochemistry and clinical applications.
J. Steroid Biochem. 5 (1974) 501-523.
41. Haneke, E.
Side effects of ketoconazole.
Z. Hautkr. 21 (1983) 1544-1547.

42. Haning, R., Tait, S.A.S., Tait, J.F.
In vitro effects of ACTH, angiotensins, serotonin and potassium on steroid output and conversion of corticosterone to aldosterone by isolated adrenal cells.
Endocrinology 87 (1970) 1147.
43. Harding, B.W., Wilson, L.D., Wong, S.H., Nelson, D.H.
Electron carriers of the rat adrenal and the 11 β -hydroxylating system.
Steroids Suppl. II (1965) 51-77.
44. Harding, B.W., Wilson, L.D., Wong, S.H.
A mitochondrial electron carrier involved in steroid hydroxylations.
Biochim. Biophys. Acta 99 (1965) 391-393.
45. Kahnt, F.W., Neher, R.
On the specific inhibition of adrenal steroid biosynthesis.
Experientia 18 (1962) 499-501.
46. Kaplan, N.M., Cook, R., Gulley, S.
The steroid content of adrenal adenomas and measurements of aldosterone production in patients with essential hypertension and primary aldosteronism.
J. Clin. Invest. 46 (1967) 728-734.
47. Karlmar, K.E.
In vitro conversion of cholesterol into aldosterone and cortisol in different zones of the bovine adrenal cortex.
Acta Endocrinologica 101 (1982) 436-441.
48. Kater, C.E., Biglieri, E.G.
Distinctive plasma aldosterone, 18-hydroxycorticosterone, and 18-hydroxycorticosterone profile in the 21-, 17 α -, and 11 β -Hydroxylase deficiency types of congenital adrenal hyperplasia.
Am. J. Med. 75 (1983) 43-48.
49. Kater, C.E., Biglieri, E.G., Brust, N., Chang, B., Hirai, J.
Zona fasciculata origin of 18-Hydroxycorticosterone in the chronically suppressed zona glomerulosa.
J. Clin. Endocr. Metab. 55 (1982) 628-633.

50. Kojima, I., Inano, H., Tamoki, B.
The final step of aldosterone biosynthesis is catalyzed by an NADPH-dependent and molecular oxygen-requiring enzyme. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 106 (1982) 617-624.
51. Kowal, J.
The effect of ketoconazole on steroidogenesis in cultured mouse adrenal cortex tumor cells. *Endocrinology* 112 (1983) 1541-1543.
52. Kowal, J.
Adrenal cells in tissue culture. IV. Use of an inhibitor of steroid synthesis for the study of ACTH action. *Endocrinology* 85 (1969) 270-279.
53. Kramer, R.E., Gallant, S., Brownie, A.C.
The role of cytochrome P-450 in the action of sodium depletion on aldosterone biosynthesis in rats. *J. Biol. Chem.* 254 (1979) 3953-3958.
54. Krebs, H.A., Henseleit, K.
Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 210 (1932) 33.
55. Lommer, D., Dorfman, R.I., Forchielli, E.
In vitro Untersuchungen über die Biosynthese der Corticosteroide in Rattennebennieren und über die Wirkung des ACTH. I. Corticosteroidbiosynthese aus endogenen Vorstufen. *Hoppe-Seylers, Z. physiol. Chemie* 352 (1971) 805.
56. Loose, D.E., Kan, P.B., Hirst, M.A., Marcus, R.A., Feldman, D.
Ketoconazole blocks adrenal steroidogenesis by inhibiting cytochrome P450-dependent enzymes. *J. Clin. Invest.* 71 (1983) 1495-1499.
57. Loose, D.S., Stover, E.P., Feldman, D.
Ketoconazole binds to glucocorticoid receptors and exhibits glucocorticoid antagonist activity in cultured cells. *J. Clin. Invest.* 72 (1983) 404-408.

58. Louis, L.H., Conn, J.W.
Primary aldosteronism: content of adrenocortical steroids in
adrenal tissue.
Rec. Prog. Hormone Res. 17 (1961) 415-436.
59. Lucis, R., Carballeira, A., Venning, E.H.
Biotransformation of progesterone-4-¹⁴C and 11-deoxycortico-
sterone-4-¹⁴C by rat adrenal glands in vitro.
Steroids 6 (1965) 737-756.
60. Marusic, E.T., Mulrow, P.J.
In vitro conversion of corticosterone-4-¹⁴C to 18-Hydroxycor-
tosterone by zona fasciculata-reticularis of beef adrenal.
Endocrinology 80 (1967) 214-218.
61. Marusic, E.T., White, A., Aedo, A.R.
Oxidative reactions in the formation of an aldehyde group
in the biosynthesis of aldosterone.
Arch. Biochem. Biophys. 157 (1973) 320-321.
62. Mason, P.A., Fraser, R., Morton, J.J., Semple, P.F., Wilson, A.
The effect of angiotensin II infusion on plasma corticosteroid
concentrations in normal man.
J. Steroid Biochem. 7 (1976) 859-861.
63. Mason, P.A., Fraser, R., Morton, J.J., Semple, P.F., Wilson, A.
The effect of sodium deprivation and of angiotensin II infu-
sion on the peripheral plasma concentrations of 18-hydroxy-
corticosterone, aldosterone and other corticosteroids in man.
J. Steroid Biochem. 8 (1977) 799-804.
64. McKenna, T.J., Island, D.P., Nicholson, W.E., Liddle, G.W.
The effects of potassium on early and late steps in aldoste-
rone biosynthesis in cells of the zona glomerulosa.
Endocrinology 103 (1978) 1411-1416.
65. Melby, J.C., Dale, S.L., Grekin, R.J., Gaunt, R., Wilson, T.E.
18-hydroxy-11-deoxycorticosterone (18-OH-DOC) secretion in
experimental and human hypertension.
Rec. Prog. Hormone Res. 28 (1972) 287-351.

66. Melby, J.C., Dale, S., Wilson, T.E.
18-Hydroxy-deoxycorticosterone in human hypertension.
Circulation Research Suppl. II, 28/29 (1971) 143-150.

67. Melby, J.C., Wilson, T.E., Dale, S.L.
Secretion of 18-hydroxydeoxycorticosterone in human hypertensive disease.
J. Clin. Invest. 49 (1970) 64a (Abstr.).

68. Müller, J., Baumann, K.
Multifactoriel regulation of the final steps of aldosterone biosynthesis in the rat.
J. Steroid Biochem. 5 (1974) 795-800.

69. Mulrow, P., Cohn, G.L.
Corticosteroid release and synthesis in vitro by adrenal slices from patients with Cushing's syndrome.
J. Clin. Invest. 40 (1961) 1250-1262.

70. Mulrow, P.J., Cohn, G.L., Kuljian, A.
Conversion of 17-hydroxy-pregnenolone to cortisol by normal and hyperplastic human adrenal slices.
J. Clin. Invest. 41 (1962) 1584-1590.

71. Nakamura, Y., Otsuka, H.
Requirement of a new flavoprotein and a non-heme iron-containing protein in the steroid 11 β - and 18-Hydroxylase system.
Biochim. Biophys. Acta 122 (1966) 34-42.

72. Neher, R.
Steroid Chromatography.
Elsevier Publishing Company Amsterdam, London, New York (1964)

73. Neher, R.
Aldosterone: chemical aspects and related enzymology.
J. Endocr. 81 (1979) 25P-35P.

74. New, M.I., Dupont, B., Pang, S., Pollack, M., Levine, L.S.
An update of congenital adrenal hyperplasia.
Rec. Prog. Hormone Res. 37 (1981) 105-181.
75. Nicolis, G.L., Ulick, S.
Role of 18-hydroxylation in the biosynthesis of aldosterone.
Endocrinology 76 (1965) 514-521.
76. Nomura, K., Naruse, M., Naruse, K., Demura, H., Shizume, K.
In vivo evidence of cortisol secretion by aldosterone-producing adenomas.
Acta Endocrinologica 106 (1984) 516-520.
77. Omura, T., Sanders, E., Estabrook, R.W., Cooper, D.Y., Rosenthal, O.
Isolation from adrenal cortex of a nonheme iron protein and a flavoprotein functional as a reduced triphosphopyridine nucleotide-cytochrome P-450 Reductase.
Arch. Biochem. Biophys. 117 (1966) 660-673.
78. Petersdorf, R.G. (Ed.)
Harrison's principles of internal medicine.
10. Auflage (1983) 645.
79. Pont, A., Graybill, J.R., Craven, P.C., Galgiani, J.N., Dismukes, W.E., Reitz, R.E., Stevens, D.A.
Effect of high dose ketoconazole on adrenal and testicular function.
Clin. Res. 31 (1983) 91A.
80. Pont, A., Graybill, J.R., Craven, P.C., Galgiani, J.N., Dismukes, W.E., Reitz, R.E., Stevens, D.A.
High-dose ketoconazole therapy and adrenal and testicular function in humans.
Arch. Intern. Med. 144 (1984) 2150-2153.
81. Pont, A., Trachtenberg, J.
Hormonal changes in patients on chronic high dose ketoconazole therapy.
Clin. Res. 32 (1984) 271A.

82. Pont, A., Williams, P.L., Azhar, S., Reitz, R.E., Bochra, C.,
Smith, E.R., Stevens, D.A.
Ketoconazole blocks testosterone synthesis.
Arch. Intern. Med. 142 (1982) 2137-2140.
83. Pont, A., Williams, P., Loose, D.S., Feldman, D., Bochra, C.,
Reitz, R.E., Stevens, D.A.
Ketoconazole inhibits adrenal steroid synthesis.
Clin. Res. 30 (1982) 99A.
84. Pont, A., Williams, P., Loose, D.S., Feldman, D., Reitz, R.E.,
Bochra, C., Stevens, D.A.
Ketoconazole blocks adrenal steroid synthesis.
Annals of Internal Medicine 97 (1982) 370-372.
85. Psychoyos, S., Tallan, H.H., Greengard, P.
Aldosterone synthesis by adrenal mitochondria.
J. Biol. Chem. 241 (1966) 2049-2056.
86. Raman P.B., Sharma D.C., Dorfmann R.I.,
Gabilove J.L.
Biosynthesis of C18-oxygenated steroids by an aldosterone
secreting human adrenal tumor.
Biochemistry 4 (1965) 1376-1385.
87. Restepo, A., Stevens, D.S., Utz, J.P., ed.
First international symposium on ketoconazole.
Rev. Infect. Dis. 2 (1980) 519-562.
88. Rovner, D.R., Conn, J.W., Cohen, E.L., Berlinger, F.G.,
Kem, D.C., Gordon, D.L.
17 α -hydroxylase-deficiency. A combination of hydroxylation
defect and reversible blockade in aldosterone biosynthesis.
Acta Endocrinologica 90 (1979) 490-504.
89. Sandor, T., Lanthier, A.
The in vitro biosynthesis of 18-Hydroxycorticosterone-4-14C
by slices of zona glomerulosa of beef adrenals and by human
adrenals.
Acta Endocrinologica 42 (1963) 355-363.

90. Sandor, T., Lanthier, A.
The biosynthesis in vitro of radioactive corticosteroids from (4-14C)progesterone by adrenal slices of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*).
Biochim. Biophys. Acta 74 (1963) 756-762.
91. Santen, R.J., Santner, S., Davis, B., Veldhuis, J., Samojlik, E., Ruby, E.
Aminogluthethimide inhibits extraglandular estrogen production in postmenopausal women with breast carcinoma.
J. Clin. Endocr. Metab. 47 (1978) 1257-1265.
92. Sato, H., Ashida, N., Suhara, K., Itagaki, E., Takemori, S., Katagiri, M.
Properties of the adrenal cytochrome P-450 (P-450 11B) for the hydroxylations of corticosteroids.
Arch. Biochem. Biophys. 190 (1978) 307-314.
93. Schürmeyer, Th., Nieschlag, E.
Effect of ketoconazole and other imidazole fungicides on testosterone biosynthesis.
Acta Endocrinologica 105 (1984) 275-280.
94. Schweikert, H.U., Milewich, L., Wilson, J.D.
Aromatization of androstendione by cultured human fibroblasts.
J. Clin. Endocr. Metab. 43 (1976) 785-795.
95. Semple, P.F., Mason, P.A., Fraser, R.
Increased 18-hydroxycorticosterone responses to frusemide in essential hypertension.
Clin. Endocr. 12 (1980) 473-481.
96. Sheppard, H.,
Steroid biosynthesis by rat adrenal: functional zonation.
Endocrinology 73 (1963) 819-824.

97. Shikita, M., Hall, P.F., Isaka, S.,
Purification of cytochrome P.450 from bovine adrenocortical
mitochondria.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 50 (1973) 289-293.
98. Sinterhauf, K., Herzog, P., Diedrichsen, G., Lommer, D.
In vitro Corticosteroidbiosynthese in menschlichen Neben-
nieren: I. Inkubation von Schnitten und Homogenaten frischen
und tiefgefroren gelagerten Gewebes.
Klinische Wochenschrift 52 (1974) 816-826.
99. Sinterhauf, K., Herzog, P., Diedrichsen, G., Lommer, D.
In vitro Corticosteroidbiosynthese in menschlichen Neben-
nieren: II. Vergleich zwischen normalen und hyperplastischen
(Cushing) Nebennieren.
Klinische Wochenschrift 52 (1974) 1103-1110.
100. Slaga, T.J., Krum, A.A.
Aldosterone biosynthesis from 4-14C-pregnenolone and 4-14C-
progesterone in the rat and rabbit.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 143 (1973) 1201-1206.
101. Sonino, N., Boscaro, M., Merola, G., Mantero, F.
Prolonged treatment of Cushing's Disease by ketoconazole.
J. Clin. Endocr. Metab. 61 (1985) 718-722.
102. Sowers, J.R., Beck, F.W.J.
Glucocorticoid suppression enhances the 18-hydroxycorticoste-
rone and aldosterone response to metoclopramide in man.
Life Sciences 33 (1983) 2489-2495.
103. Sowers, J.R., Eggena, P., Phillips, D.
Effect of metoclopramide and domperidone on aldosterone, 18-hy-
droxycorticosterone and prolactin secretion in the Rhesus monkey
Metabolism 31 (1982) 1219-1223.

104. Sowers. J.R., Martin, V.I., Stern, N., Berg, G.
Dopaminergic control of 18-hydroxycorticosterone responses to posture, isometric exercise, and diuretic administration in normal man.
J. Clin. Endocr. Metab. 55 (1982) 475-480.
105. Stachenko, J., Giroud, C.J.P.
Further observations on the functional zonation of the adrenal cortex.
Can. J. Biochem. 92 (1964) 1777-1786.
106. Tait, S.A.S., Schulster, D., Okamoto, M., Flood, C., Tait, J.F.
Production of steroids by in vitro superfusion of endocrine tissue.
Endocrinology 86 (1970) 360-382.
107. Tan, S.Y., Mulrow P.J.
The contribution of the zona fasciculata and glomerulosa to plasma 11-deoxycorticosterone levels in man.
J. Clin. Endocr. Metab. 41 (1975) 126-130.
108. Trachtenberg, J., Halpein, N., Pont, A.
Ketoconazole: A novel and rapid treatment for advanced prostatic cancer.
J. Urol. 130 (1983) 152-153.
109. Trachtenberg, J., Pont, A.
Ketoconazole therapy for advanced prostate cancer.
The Lancet 2 (1984) 433-435.
110. Ulick, S.
Diagnosis and nomenclature of the disorders of the terminal portion of the aldosterone biosynthetic pathway.
J. Clin. Endocr. Metab. 43 (1976) 92-96.
111. Ulick, S., Gautier E., Vetter K.K., Markello J.R., Yaffe S., Lowe C.U.
An aldosterone biosynthetic defect in a salt-losing disorder.
J. Clin. Endocr. Metab. 24 (1964) 669-672.

112. Ulick, S., Vetter K.K.
Simultaneous measurement of secretory rates of aldosterone and 18-hydroxycorticosterone.
J. Clin. Endocr. Metab. 25 (1965) 1015-1026.
113. Ulick, S., Vetter K.K.
Identification of two C18-oxygenated corticosteroids isolated from human urine.
J. Biol. Chem. 237 (1962) 3364-3374.
114. Vescei, P., Lommer, D., Wolff, H.P.
The intermediate role of 18-hydroxycorticosteroids in aldosterone biosynthesis.
Experientia 24 (1968) 1199-1201.
115. Vescei, P., Purjesz, I., Wolff, H.P.
Studies on the biosynthesis of aldosterone in solitary adenoma and in nodular hyperplasia of the adrenal cortex in patients exhibiting Conn's syndrome.
Acta Endocrinologica 62 (1969) 391-398.
116. Vescei, P., Purjesz, I., Wolff, H.P.
Corticosteroid biosynthesis in vitro from progesterone-4-14C in adrenal adenomas and adrenal cortical tissue with bilateral small node hyperplasia in the Conn syndrome.
Acta Endocrinologica 62 (1969) 391-404.
117. Vinson, G.P., Whitehouse, B.J., Goddard, C., Sibley, C.P.
Comparative and evolutionary aspects of aldosterone secretion and zona glomerulosa function.
J. Endocr. 81 (1979) 5P-24P.
118. Visser, H.K.A., Cost W.S.
A new hereditary defect in the biosynthesis of aldosterone: Urinary C21-corticosteroid pattern in three related patients with a salt-losing syndrome, suggesting an 18-oxidase defect.
Acta Endocrinologica 47 (1964) 589-612.

119. Warnock, D.W., Daneshmand, T.K.
Serum pharmacokinetics of ketoconazole in normal subjects.
Clin. Res. Rev. 1 (1981) 1911-1913.
120. Watanuki, M., Tilley, B.E., Hall, P.F.
Cytochrome P-450 for 11 β - and 18-hydroxylase activities of
bovine adrenocortical mitochondria: One enzyme or two?
Biochemistry 17 (1978) 127-130.
121. Watanuki, M., Tilley, B.E., Hall, P.F.
Purification and properties of cytochrome P-450 (11 β - and 18-
hydroxylase) from bovine adrenocortical mitochondria.
Biochim. Biophys. Acta 483 (1977) 236-247.
122. Willemsens, G., Cools, W., van den Bossche, H.
Effects of miconazole and ketoconazole on sterol synthesis in
a subcellular fraction of yeast and mammalian cells.
The Host Invader Interplay 69 (1980) 691-694.

8. ANHANG

Erklärung der Abkürzungen: s. Kap. 3.3.6.

Tabelle 1

Versuch 1

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -11-Desoxycortisol und ^3H -Cortisol unter
verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat I: hyperplastische Nebennierenrinde (klin.: Cushing-Syndrom)

Substrat: 1,2- ^3H -17-alpha-Hydroxyprogesteron (I17)

Substratmenge: 233 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Zweifachansatz

Indikatoren zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Cortisol (TF) und
4- ^{14}C -17-alpha-Hydroxyprogesteron (T17)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TF 14C	77007,0	74432,1			
TF 3H	7004,1	7136,6			
T17 14C	48785,2	51160,2			
I17 3H	715222	715222			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol					
I17 cpmB	13464,1	10890,0			
17-alpha-Hydroxyprogesteron (17)					
cpmA	13398,5	8577,1			
cpmB	2554,3	1332,3			
cpmB'	1126	418,0			
3H	4205	2558	3380	1,0	17
fmol/mg/h	0,630	0,383	0,51		17
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	1160,0	1448,9			
cpmB	3931,7	1650,0			
cpmB'		1496			
3H		4648	4650	1,0	S
fmol/mg/h		0,697	0,70		S
17-alpha-Hydroxyprogesteron/ 11-Desoxycortisol (17/S)					
17/ S		0,550	0,550	1,0	17/S
Cortisol (F)					
cpmA	5806,3	24706,8			
cpmB	38591,5	179396,6			
cpmB'	37970	176800			
Wf.	8?	33			
3H	516500	546200	531000	1,0	F
fmol/mg/h	77,4	81,9	80		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F		0,008510	0,00851	1,0	S/F

Tabelle 1 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
	5 mg/1 Ketoconazol				
117 cpmB	19635,3	14562,3			
17-alpha-Hydroxyprogesteron (17)					
cpmA	16202,9	15861,8			
cpmB	3980,5	3475,4			
cpmB'	2254	1785			
3H	6959	5904	6430	1,9	17
fmol/mg/h	1,04	0,885	0,96		17
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	1176,8	539,3			
cpmB	79191,8	17355,5			
cpmB'	71790	12410			
3H	126300	27680	77000	17	S
fmol/mg/h	18,9	4,15	12		S
17-alpha-Hydroxyprogesteron / 11-Desoxycortisol (17/S)					
17/ S	0,05512	0,2133	0,134	0,24	17/S
Cortisol (F)					
cpmA	44910,7	34236,3			
cpmB	282348,8	313758,2			
cpmB'	277600	310100			
Wf.	58	46			
3H	488100	691500	590000	1,1	F
fmol/mg/h	73,2	104	89		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	0,2587	0,0400	0,150	18	S/F
	10 mg/1 Ketoconazol				
117 cpmB	17972,2	18423,0			
17-alpha-Hydroxyprogesteron (17)					
cpmA	17353,8	115,0			
cpmB	4189,7	2079,5			
cpmB'	2340	1268			
3H	6578	4644	5610	1,7	17
fmol/mg/h	0,986	0,696	0,84		17
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	653,5	881,5			
cpmB	74003,5	11677,3			
cpmB'	69820	5456			
3H	110700	19330	65000	14	S
fmol/mg/h	16,6	2,90	9,8		S
17-alpha-Hydroxyprogesteron / 11-Desoxycortisol (17/S)					
17/ S	0,0594	0,234	0,147	0,27	17/S
Cortisol (F)					
cpmA	48561,2	21114,0			
cpmB	310909,0	149017,2			
cpmB'	305700	146800			
Wf.	63	28			
3H	497300	533400	515000	0,97	F
fmol/mg/h	74,5	79,9	77		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	0,2284	0,03717	0,133	16	S/F

Tabelle 1 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
	20 mg/l Ketoconazol				
117 cpmB	21157,6	20153,2			
17-alpha-Hydroxyprogesteron (17)					
cpmA	21422,8	209,7			
cpmB	4827,6	3741,2			
cpmB'	2544				
3H	5942		5940	1,8	17
fmol/mg/h	0,891		0,89		17
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	692,6	649,3			
cpmB	48520	60110			
cpmB'	43250				
3H	82640		82600	18	S
fmol/mg/h	12,4		12		S
17-alpha-Hydroxyprogesteron / 11-Desoxycortisol (17/S)					
17/ S	0,0719		0,0719	0,13	17/S
Cortisol (F)					
cpmA	41338,5	8756,3			
cpmB	314274,8	66567,2			
cpmB'	309900	65630			
Wf.	54	11			
3H	592000	575200	569000	1,1	F
fmol/mg/h	88,7	86,2	88		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	0,1396		0,140	16	S/F
	40 mg/l Ketoconazol				
117 cpmB	19675,2	19231,9			
17-alpha-Hydroxyprogesteron (17)					
cpmA	26605,4	298,8			
cpmB	8115,5	3491,6			
cpmB'	5280	1489			
3H	9929	3393	6660	2,0	17
fmol/mg/h	1,49	0,509	1,0		17
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	623,0	373,6			
cpmB	123052,5	56892,2			
cpmB'	119500	54390			
3H	197300	123900	161000	35	S
fmol/mg/h	29,6	18,6	24		S
17-alpha-Hydroxyprogesteron / 11-Desoxycortisol (17/S)					
17/ S	0,05031		0,0503	0,091	17/S
Cortisol (F)					
cpmA	47805,5	33695,8			
cpmB	276388,8	225874,0			
cpmB'	271300	222300			
Wf.	62	45			
3H	448200	506200	477000	0,90	F
fmol/mg/h	67,2	75,9	72		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	0,4403	0,2447	0,685	81	S/F

Tabelle 2

Versuch 2

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -11-Desoxycortisol:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -Cortisol unter verschiedenen
Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat I: hyperplastische Nebennierenrinde (klin.: Cushing-Syndrom)

Substrat: 1,2- ^3H -11-Desoxycortisol (IS)

Substratmenge: 194 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Zweifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Cortisol (IF)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TF 14C	101177,5	75303,1			
TF 3H	8849,2	6891,0			
IS 3H	760299	760299			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol					
IS cpmB	19962,3	19358,4			
Cortisol (F)					
cpmA	61917,0	42796,2			
cpmB	319368,3	334665,1			
cpmB'	312800	330100			
Wf.	61	56			
3H	524200	595700	560000	1,0	F
fmol/mg/h	67,0	76,2	72		F
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	219,0	115,9			
cpmB	3752,7	3341,2			
cpmB'	2623	2435			
3H	4396	4394	4400	1,0	S
fmol/mg/h	0,562	0,562	0,56		S
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	0,00839	0,00738	0,00788	1,0	S/F
5 mg/l Ketoconazol					
IS cpmB	19265,6				
Cortisol (F)					
cpmA	63575,6				
cpmB	280278,4				
cpmB'	273500				
Wf..	63				
3H	446400		446000	0,80	F
fmol/mg/h	57,1		57		F
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	273,3				
cpmB	45489,7				
cpmB'	44280				
3H	72280		72300	16	S
fmol/mg/h	9,24		9,2		S
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	0,162		0,162	21	S/F

Tabelle 2 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
10 mg/l Ketoconazol					
IS cpmB	19254,3	19135,0			
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	341,9	250,2			
cpmB	85297,3	120966,5			
cpmB'	83980	119600			
3H	185000	236300	211000	48	S
fmol/mg/h	23,7	30,2	27		S
Cortisol (F)					
cpmA	47094,9	39108,4			
cpmB	181745,1	205935,4			
cpmB'	176700	201800			
Wf.	46	51			
3H	389400	398500	394000	0,70	F
fmol/mg/h	49,8	51,0	50		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	0,475	0,593	0,534	68	S/F
20 mg/l Ketoconazol					
IS cpmB	18296,7	18086,3			
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	684,1	463,1			
cpmB	153631,4	208542,2			
cpmB'	151600	206600			
3H	260500	545000	403000	92	S
fmol/mg/h	33,3	67,7	52		S
Cortisol (F)					
cpmA	60378,4	29271,9			
cpmB	179992,2	125630,4			
cpmB'	173600	122500			
Wf.	60	38			
3H	298300	323200	311000	0,56	F
fmol/mg/h	38,1	41,3	40		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	0,873	1,69	1,28	160	S/F
40 mg/l Ketoconazol					
IS cpmB	19454,3	18254,3			
11-Desoxycortisol (S)					
cpmA	413,3	438,7			
cpmB	163987,8	172230,0			
cpmB'	162800	170300			
3H	318100	315500	317000	72	S
fmol/mg/h	40,7	40,3	41		S
Cortisol (F)					
cpmA	53095,8	41685,9			
cpmB	157330,9	182454,3			
cpmB'	151700	178000			
Wf.	53	55			
3H	296400	329800	313000	0,56	F
fmol/mg/h	37,9	42,2	40		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)					
S / F	1,07	0,957	1,02	130	S/F

Tabelle 3

Versuch 3

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -11-Desoxycortisol:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -Cortisol unter verschiedenen
Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat II: Nebennierenrinde eines entfernten Phäochromocytoms

Substrat: 1,2- ^3H -11-Desoxycortisol (IS)

Substratmenge: 335 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Dreifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Cortisol (TF)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TF 14C	66458,4	68583,9	65003,8			
TF 3H	6049,5	5962,1	5659,4			
IS 3H	1208521	1208521	1208521			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	27967,4	31054,3	30773,5			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	415,6	684,3	96,1			
cpmB	61399,9	53060,8	15119,4			
cpmB'	56290	43880	13580			
3H	86040	72620	25210	61300	1,0	S
fmol/mg/h	11,0	9,29	3,22	7,8		S
Cortisol (F)						
cpmA	44594,4	42507,3	35918,8			
cpmB	548470,5	570204,2	574442,8			
cpmB'	544400	566500	571300			
Wf.	67	62	55			
3H	832100	937500	1060000	943000	1,0	F
fmol/mg/h	106	120	136	121		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	0,1034	0,07746	0,02377	0,0682	1,0	S/F
2,5 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	26468,5	30701,5	30029,5			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	751,7	628,7	604,			
cpmB	107749,9	122010,4	39999,3			
cpmB'	98460	114900	31100			
3H	186000	214800	47440	149000	2,4	S
fmol/mg/h	23,8	27,5	6,07	19		S
Cortisol (F)						
cpmA	36082,0	37631,5	43700,1			
cpmB	446156,8	425840,8	643352,6			
cpmB'	442900	422600	639500			
Wf.	54	55	67			
3H	836600	790000	975700	867000	0,92	F
fmol/mg/h	107	101	125	110		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	0,2223	0,2719	0,04862	0,181	2,7	S/F

Tabelle 3 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
5 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB		32069,6	32548,5			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA		614,7	498,9			
cpmB		229265,3	102284,2			
cpmB'		222400	95850			
3H		412400	152400	282000	4,6	S
fmol/mg/h		52,7	19,5	36		S
Cortisol (F)						
cpmA		37933,8	41924,5			
cpmB		423838,0	540989,4			
cpmB'		420500	537300			
Wf.		55	64			
3H		779800	854500	817000	0,87	F
fmol/mg/h		99,7	109	100		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F		0,5288	0,1784	0,354	5,2	S/F
10 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	28360,4	30759,0	32175,5			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	1610	965,8	509,3			
cpmB	521742,6	184113,3	126042,7			
cpmB'	520100	173700	119600			
3H	964200	324400	220600	503000	8,2	S
fmol/mg/h	123	41,5	28,2	64		S
Cortisol (F)						
cpmA	36767,4	37666,4	36153,0			
cpmB	38054,2	405346,2	454068,0			
cpmB'	34710	402100	450900			
Wf.	55	55	56			
3H	64340	750900	831600	549000	0,58	F
fmol/mg/h	8,23	96,0	106	70		F
11-Desoxycortisol (S) / Cortisol (F)						
S / F	14,98	0,4321	0,2653	5,23	77	S/F
20 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	29288,3	30854,7	29931,5			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	1505,8	1437,5	686,7			
cpmB	513984,3	478658,1	284559,9			
cpmB'	512800	472200	279000			
3H	984300	801100	473500	753000	12	S
fmol/mg/h	126	102	60,6	96		S
Cortisol (F)						
cpmA	35509,2	41464,1	39283,2			
cpmB	28018,9	186555,4	318865,8			
cpmB'	24790	183000	315400			
Wf.	53	60	60			
3H	47580	310400	535400	298000	0,32	F
fmol/mg/h	6,08	39,7	68,5	38		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	20,69	2,581	0,8844	8,052	120	S/F

Tabelle 4

Versuch 4

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -11-Desoxycortisol:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -Cortisol unter verschiedenen
Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat III: Nebenniere von Tumornephrektomie

Substrat: 1,2- ^3H -11-Desoxycortisol (IS)

Substratmenge: 227 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Dreifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Cortisol (TF)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TF 14C	137740,9	128315,9	140386,8			
TF 3H	12212,0	10957,4	11675,8			
IS 3H	819225	819225	819225			
Basalswerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	18985,3	17584,9	19845,0			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	1087,8	269,7	773,2			
cpmB	15607,3	11031,6	15187,8			
cpmB'	12240	9634	11040			
3H	12550	17170	17240	15700	1,0	S
fmol/mg/h	1,60	2,20	2,20	2,0		S
Cortisol (F)						
cpmA	140006,7	73857,3	92225,7			
cpmB	433653,6	382758,5	494794,6			
cpmB'	421200	376500	487100			
Wf.	102	58	66			
3H	432000	670800	760500	621000	1,0	F
fmol/mg/h	55,2	85,8	97,3	79		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	0,02905	0,02559	0,02266	0,0258	1,0	S/F
2,5 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	20809,1	20720,5	21421,8			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	395,3	463	568,3			
cpmB	20443,0	35720,7	20483,2			
cpmB'	19070	33460	17220			
3H	20720	55660	30380	36100	2,3	S
fmol/mg/h	2,65	7,12	3,89	4,6		S
Cortisol (F)						
cpmA	130022,5	77146,7	81595,3			
cpmB	451456,2	376122,9	469121,5			
cpmB'	439900	369500	462400			
Wf.	94	60	58			
3H	478000	630400	815900	641000	1,03	F
fmol/mg/h	61,1	80,6	104	82		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	0,4335	0,09056	0,03724	0,0571	2,2	S/F

Tabelle 4 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
5 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	20647,6	24237,2	22486,6			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	654,6	444,0	520,6			
cpmB	26291,5	49774,8	79516,3			
cpmB'	23250	47570	77040			
3H	34020	77250	120200	77200	4,9	S
fmol/mg/h	4,35	9,88	15,4	9,9		S
Cortisol (F)						
cpmA	96560,5	81042,8	92263,0			
cpmB	449200,4	402761,2	438903,7			
cpmB'	440600	395800	431200			
Wf.	70	63	66			
3H	644700	642800	673000	653000	1,1	F
fmol/mg/h	82,4	82,2	86,1	84		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	0,5276	0,1202	0,1787	0,117	4,6	S/F
10 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	20644,6	20636,7	20758,9			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	799,6	906,7	1274,0			
cpmB	151872,1	59472,3	219548,7			
cpmB'	148500	55300	215600			
3H	272100	104400	360800	246000	16	S
fmol/mg/h	34,8	13,4	46,1	31		S
Cortisol (F)						
cpmA	77111,8	69723,7	86021,6			
cpmB	320474,6	320726,0	268272,3			
cpmB'	313600	314800	261100			
Wf.	56	54	61			
3H	574600	594100	437000	535000	0,86	F
fmol/mg/h	73,5	77,0	55,9	69		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	0,4736	0,1757	0,8256	0,492	19	S/F
20 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	21126,4	18413,4	18891,2			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	740,9	1836,2	1860,2			
cpmB	186647,2	214553,1	366064,2			
cpmB'	184700	210500	362600			
3H	227300	388500	559800	392000	25	S
fmol/mg/h	29,1	49,7	71,6	50		S
Cortisol (F)						
cpmA	114786,6	71294,4	93267,1			
cpmB	308374,6	159004,0	172842,4			
cpmB'	298200	152900	165100			
Wf.	83	56	66			
3H	367000	282300	254900	301000	0,49	F
fmol/mg/h	46,9	36,1	32,6	39		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	0,6192	1,376	2,197	1,40	54	S/F

Tabelle 5

Versuch 5

Inkubationen von Gewebehomogenaten mit ^3H -11-Desoxycortisol:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -Cortisol unter verschiedenen
Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat IV: eingefrorenes Nebennierenrindenadenom (klin.: Conn-Syndrom)

Substrat: 1,2- ^3H -Desoxycortisol (IS)

Substratmenge: 228 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Dreifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Cortisol (TF)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TF 14C	54007,7	53393,6	51784,9			
TF 3H	4702,4	4464,0	4610,9			
IS 3H	839600	839600	839600			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	26893,3	28810,2	28485,6			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	1204,6	903,0	502,2			
cpmB	290673,0	276760,7	245640,9			
cpmB'	284600	271600	242800			
3H	454000	466500	420000	447000	1,0	S
fmol/mg/h	58,1	59,7	53,7	57		S
Cortisol (F)						
cpmA	35027,7	32156,8	30977,8			
cpmB	176387,9	185129,6	172369,7			
cpmB'	173300	182400	169600			
Wf.	65	60	60			
3H	276500	313400	293300	294000	1,0	F
fmol/mg/h	35,4	40,1	37,5	38		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	1,642	1,488	1,432	1,52	1,0	S/F
2,5 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	29830,8	29198,7	28807,0			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	996,6	1116,7	1255,7			
cpmB	377724,2	415074,4	373548,2			
cpmB'	374000	412100	369900			
3H	567200	637500	569200	591000	1,3	S
fmol/mg/h	72,5	81,5	72,8	76		S
Cortisol (F)						
cpmA	36838,8	35705,0	34813,5			
cpmB	137518,7	95112,9	101211,3			
cpmB'	134300	92130	98110			
Wf.	68	67	67			
3H	203700	142500	151000	166000	0,56	F
fmol/mg/h	26,0	18,2	19,3	21		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	2,785	4,473	3,770	3,68	2,4	S/F

Tabelle 5 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
5 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	27479,9	29188,2	22326,0			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	1153,1	1189,8	1155,5			
cpmB	425409,4	441011,4	433053,4			
cpmB'	423600	439100	430900			
3H	704900	703900	655100	688000	1,5	S
fmol/mg/h	90,1	90,0	83,8	88		S
Cortisol (F)						
cpmA	33573,1	21552,6	35235,5			
cpmB	53811,0	38449,7	65312,9			
cpmB'	50890	36650	62180			
Wf.	62	40?	68			
3H	84680	93920	94530	91000	0,31	F
fmol/mg/h	10,8	12,0	12,1	12		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	8,323	7,495	6,931	7,58	5,0	S/F
10 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	28236,0	28033,5	29520,7			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	1135,3	1321,3	1247,5			
cpmB	451857,8	464401,0	441097,6			
cpmB'	450500	462900	439600			
3H	768800	742400	714000	742000	1,7	S
fmol/mg/h	98,3	94,9	91,3	95		S
Cortisol (F)						
cpmA	32734,7	34440,6	32984,0			
cpmB	39897,8	38221,8	39129,8			
cpmB'	37050	35340	36190			
Wf.	61	65	64			
3H	63230	56680	58780	58800	0,20	F
fmol/mg/h	8,09	7,25	7,52	7,6		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	12,16	13,10	12,15	12,5	8,2	S/F
20 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	26290,0	28730,0	27970,2			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	1193,4	1163,2	1018,6			
cpmB	474838,5	493004,4	415729,7			
cpmB'	473900	492100	415100			
3H	704100	766800		735000	1,7	S
fmol/mg/h	90,0	98,1		94		S
Cortisol (F)						
cpmA	37603,3	35446,2	16264,2			
cpmB	29174,5	27254,3	9903,2			
cpmB'	25900	24290	8455,0			
Wf.	70	66	31?			
3H	38480	37850	27850	34700	0,12	F
fmol/mg/h	4,92	4,84	3,56	4,4		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	18,30	20,26		19,3	13	S/F

Tabelle 6

Versuch 6

Inkubationen von Gewebekomogenaten mit ^3H -11-Desoxycortisol:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -Cortisol unter verschiedenen
Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat V: eingefrorenes Nebennierenrindenadenom (klin.: Cushing-Syn.)

Substrat: 1,2- ^3H -Desoxycortisol (IS)

Substratmenge: 228 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 1h; Dreifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Cortisol (TF)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TF 14C	59827,4	59927,7	57370,8			
TF 3H	5276,5	4983,4	5060,9			
IS 3H	842566	842566	842566			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	29539,8	28812,2	30191,4			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	654,5	844,4	721,3			
cpmB	389763,8	364679,9	478151,1			
cpmB'	389400	364300	477800			
3H	788700	757700	907900	818000	1,0	S
fmol/mg/h	202	194	232	210		S
Cortisol (F)						
cpmA	34395,1	37105,4	36601,5			
cpmB	17080,4	16803,3	19986,1			
cpmB'	15570	13720	16760			
Wf.	58	62	64			
3H	27090	22160	26270	25200	1,0	F
fmol/mg/h	6,93	5,67	6,72	6,4		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	29,12	34,20	34,56	32,6	1,0	S/F
2,5 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	27092,8	31694,6	32388,3			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	864,1	1191,4	1143,0			
cpmB	399727,6	512310,1	513930,7			
cpmB'	399500	511900	513500			
3H	667100	752900	758300	726000	0,89	S
fmol/mg/h	171	193	194	190		S
Cortisol (F)						
cpmA	35847,0	40746,9	38847,2			
cpmB	10423,0	13098,3	14761,2			
cpmB'	7264	9710	11330			
Wf.	60	68	68			
3H	12130	14280	16740	14400	0,57	F
fmol/mg/h	3,10	3,65	4,28	3,7		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	55,00	52,72	45,30	51,0	1,6	S/F

Tabelle 6 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
10 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	23912,1	27980,9	29903,2			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	749,4	977,3	1162,4			
cpmB	394886,9	492111,5	500113,4			
cpmB'	392100	491800	499800			
3H	748600	699200	749800	733000	0,90	S
fmol/mg/h	191	179	192	190		S
Cortisol (F)						
cpmA	31924,9	42150,9	38239,1			
cpmB	8710,1	13200,7	11052,7			
cpmB'	5895	9695	7679			
Wf.	53	70	67			
3H	11050	13790	11520	12100	0,48	F
fmol/mg/h	2,83	3,53	2,95	3,1		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	67,77	50,72	65,08	61,2	1,9	S/F
20 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	23967,0	27964,9	25876,5			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	871,3	937,4	1171,2			
cpmB	386944,2	449149,2	518122,4			
cpmB'	386700	448800	517800			
3H	634600	784700	773600	731000	0,89	S
fmol/mg/h	162	201	198	190		S
Cortisol (F)						
cpmA	36458,6	34280,5	38400,6			
cpmB	8451,9	11137,9	11504,2			
cpmB'	5236	8287	8117			
Wf.	61	57	67			
3H	8593	14490	12130	11700	0,47	F
fmol/mg/h	2,20	3,71	3,10	3,0		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	73,86	54,16	63,79	63,9	2,0	S/F
40 mg/l Ketoconazol						
IS cpmB	21866,5	27300,2	32792,2			
11-Desoxycortisol (S)						
cpmA	882,9	641,9	968,1			
cpmB	446280,2	377152,9	484917,6			
cpmB'	446100	377000	484600			
3H	747900	658100	725500	711000	0,87	S
fmol/mg/h	191	168	186	180		S
Cortisol (F)						
cpmA	35683,4	34325,6	38323,6			
cpmB	9186,1	10671,2	11277,7			
cpmB'	6039	7816	7897			
Wf.	60	57	67			
3H	10130	13650	11820	11900	0,47	F
fmol/mg/h	2,59	3,49	3,02	3,0		F
11-Desoxycortisol / Cortisol (S/F)						
S / F	73,86	48,22	61,37	61,2	1,9	S/F

Tabelle 7

Versuch 7

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -11-Desoxycorticosteron:
Bestimmung des Umsatzes zu ^3H -Corticosteron und ^3H -Aldosteron unter
verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat II: Nebennierenerinde eines entfernten Phäochromocytoms

Substrat: 1,2- ^3H -11-Desoxycorticosteron (IDOC)

Substratmenge: 440 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Dreifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbest.: 4- ^{14}C -11-Desoxycorticosteron (TDOC)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TDOC 14C	132585,7	129959,5	135211,9			
TDOC 3H	15027,4	14735,1	15319,6			
IDOC 3H	1129992	1129992	1129992			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	29191,1	30660,9	30110,2			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	65925,0	70187,8	71181,1			
cpmB	17344,5	18057,5	15721,4			
cpmB'	9873	10100	7657			
Wf.	50	54	53			
3H	20360	19180	14920	18200	1,0	DOC
fmol/mg/h	3,65	3,44	2,67	3,3		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	380,7	433,2	378,4			
cpmB	683439,4	694631,5	640437,2			
3H	1410000	1312000	1248000	1340000	1,0	B
fmol/mg/h	253	235	224	240		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,0114	0,0145	0,0120	0,126	1,0	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	45,2	40,2	37,6			
cpmB	30762,3	24491,9	22172,3			
3H	63450	46510	43200	51100	1,0	A
fmol/mg/h	11,4	8,34	7,74	9,2		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	22,22	28,36	28,88	26,5	1,0	B/A

Tabelle 7 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
2,5 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	33627,1	19266,0	31509,6			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	67240,3	62826,0	76795,4			
cpmB	40303,8	31385,4	71286,4			
cpmB'	32680	24260	62590			
Wf.	51	48	57			
3H	66100	51470	113000	76900	4,2	DOC
fmol/mg/h	11,9	9,23	20,3	14		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	485,2	279,5	372,4			
cpmB	721687,3	526853,9	549533,1			
3H	1460000	1118000	992400	1190000	0,90	B
fmol/mg/h	262	200	178	210		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,0453	0,0461	0,1139	0,0684	5,4	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	48,4	34,2	36,8			
cpmB	22029,9	23042,8	17067,2			
3H	44550	48890	30820	41400	0,81	A
fmol/mg/h	7,99	8,76	5,53	7,4		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	32,76	22,86	32,20	29,3	1,1	B/A
5 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	26001,3	32292,8	23942,6			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	66305,6	67834,9	50597,6			
cpmB	101539,1	217571,7	36373,1			
cpmB'	94020	209900	30640			
Wf.	50	52	37			
3H	192800	412400	84930	230000	13	DOC
fmol/mg/h	34,6	73,9	15,2	41		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	348,3	341,4	283,3			
cpmB	583404,7	422355,0	453863			
3H	1196000	829900	1244000	1090000	0,82	B
fmol/mg/h	214	149	223	200		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,1612	0,4969	0,0675	0,242	19	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	29,4	44,1	73,5			
cpmB	7041,4	11142,8	14072,4			
3H	14440	21900	38570	25000	0,49	A
fmol/mg/h	2,59	3,93	6,91	4,5		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	82,85	37,90	32,25	51,0	1,3	B/A

Tabelle 7 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
10 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	30800,5		29056,3			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	58260,4		63868,0			
cpmB	50577,9		123881			
cpmB'	43980		116600			
Wf.	44		47			
3H	102600		253300	178000	9,8	DOC
fmol/mg/h	18,4		45,4	32		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	391,5		527,0			
cpmB	603439,6		454257,2			
3H	1408000		986300	1200000	0,90	B
fmol/mg/h	252		177	220		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,0729		0,2578	0,165	13	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	41,6		67,0			
cpmB	14837,0		18491,8			
3H	34630		40150	37400	0,73	A
fmol/mg/h	6,21		7,20	6,7		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	40,67		24,57	32,6	1,2	B/A
20 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	24002,8	23722,3	31313,6			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	62057,4	69004,8	50153,2			
cpmB	141982,1	279551,8	255260,0			
cpmB'	134900	271700	249600			
Wf.	47	53	37			
3H	295700	524900	690100	504000	28	DOC
fmol/mg/h	53,0	94,1	124	90		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	437,4	365,8	343,7			
cpmB	450703,5	311257,9	213148,4			
3H	987600	601200	589400	726000	0,55	B
fmol/mg/h	177	108	106	130		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,2995	0,8730	1,171	0,781	62	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	40,9	48,0	39,9			
cpmB	12153,6	13797,6	13802,0			
3H	26630	26650	38160	30500	0,60	A
fmol/mg/h	4,77	4,78	6,84	5,5		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	37,08	22,56	15,44	25,0	0,95	B/A

Tabelle 8

Versuch 8

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -11-Desoxycorticosteron:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -Corticosteron, ^3H -Aldosteron und
 ^3H -18-Hydroxycorticosteron unter verschiedenen Ketoconazolkon-
zentrationen.

Präparat III: Nebenniere von Tumornephrektomie

Substrat: 1,2- ^3H -11-Desoxycorticosteron (IDOC)

Substratmenge: 407 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Dreifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbest.: 4- ^{14}C -11-Desoxycorticosteron (TDOC)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TDOC 14C	62849,0	63262,4	62496,9			
TDOC 3H	7206,5	7117,6	7122,2			
IDOC 3H	1045551	1045551	1045551			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	23233,7	26388,5	25556,7			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	29544,2	27902,6	28062,1			
cpmB	4664,6	7211,5	8608,4			
cpmB'	1277	4072	5410			
Wf.	47	44	45			
3H	2786	9470	12360	8210	1,0	DOC
fmol/mg/h	0,499	1,70	2,22	1,5		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	264,9	345,2	238,8			
cpmB	441793,1	475119,5	540674,9			
3H	963900	1105000	1235000	1100000	1,0	B
fmol/mg/h	173	198	221	200		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,001359	0,003780	0,004493	0,00321	1,0	DOC/B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	19,2	21,6	17,5			
cpmB	35854,0	47642,8	24263,8			
3H	78230	110800	55420	81500	1,0	18
fmol/mg/h	14,0	19,9	9,94	15		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	12,32	9,973	22,28	14,9	1,0	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	20,2	46,9	28,0			
cpmB	13290,6	25126,7	8204,9			
3H	29000	58430	18740	35400	1,0	A
fmol/mg/h	5,20	10,5	3,36	6,4		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	33,24	18,91	65,90	39,4	1,0	B/A

Tabelle 8 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
2,5 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	26367,2	26439,3	25400,8			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	33292,1	31856,9	31770,7			
cpmB	7071,9	10260,5	6791,4			
cpmB'	3255	6676	3171			
Wf.	53	50	51			
3H	6301	13600	6397	8770	1,1	DOC
fmol/mg/h	1,13	2,44	1,15	1,6		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	248,5	333,8	255,6			
cpmB	512962,6	516179,1	465941,8			
3H	993200	1051000	940100	995000	0,90	B
fmol/mg/h	178	188	169	180		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,003361	0,006513	0,003459	0,00444	1,4	DOC/B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	20,3	110,8	16,6			
cpmB	16435,5	37673,6	30244,8			
3H	31820	76730	61020	56500	0,69	18
fmol/mg/h	5,70	13,8	10,9	10		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	31,21	13,70	15,41	20,1	1,4	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	22,7	211,3	18,7			
cpmB	11370,9	17962,8	12480,7			
3H	20030	35740	25180	27000	0,76	A
fmol/mg/h	3,59	6,41	4,51	4,8		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	49,60	29,42	37,33	38,8	0,99	B/A
5 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	23627,7	27620,6	26125,0			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	28616,5	29654,5	30909,4			
cpmB	23098,4	27393,5	13223,8			
cpmB'	19820	24060	9701			
Wf.	46	47	49			
3H	44640	52640	20120	39100	4,8	DOC
fmol/mg/h	8,00	9,44	3,61	7,0		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	294,4	375,1	172,0			
cpmB	500443,7	480627,4	484411,2			
3H	1127000	1052000	1005000	1060000	0,96	B
fmol/mg/h	202	189	180	190		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,01803	0,02346	0,009905	0,0171	5,3	DOC/B

Tabelle 8 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
5 mg/l Ketoconazol						
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	17,2	25,9	18,3			
cpmB	11277,5	23546,6	17325,2			
3H	25400	51520	35930	37600	0,46	18
fmol/mg/h	4,55	9,24	6,44	6,7		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	44,38	20,41	27,96	30,9	2,1	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	29,8	61,0	23,4			
cpmB	8935,5	12261,3	5824,0			
3H	20130	26830	12080	19700	0,56	A
fmol/mg/h	3,61	4,81	2,17	3,5		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	56,01	39,20	83,17	59,5	1,5	B/A
10 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	26775,0	26830,2	26510,5			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	34504,5	19080,6	31053,7			
cpmB	22921,1	20742,4	28005,4			
cpmB'	18960	18600	24470			
Wf.	55	30?	50			
3H	35430	63240	50500	49700	6,1	DOC
fmol/mg/h	6,35	11,3	9,05	8,9		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	258,6	309,1	259,0			
cpmB	523735,1	454705,9	519738,7			
3H	978400	(1546000)	1073000	1030000	0,93	B
fmol/mg/h	175	(277)	192	180		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,01988	(0,01233)	0,02339	0,0216	6,7	DOC/B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	22,1	16,1	16,8			
cpmB	16060,0	24375,0	16651,1			
3H	30000	(82890)	34370	32200	0,40	18
fmol/mg/h	5,38	(14,9)	6,16	5,8		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	32,61	18,65	31,21	27,5	1,9	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	29,5	44,2	33,3			
cpmB	7817,3	10037,2	4869,8			
3H	14600	(34130)	10010	12300	0,35	A
fmol/mg/h	2,62	(6,12)	1,79	2,2		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	67,00	45,30	106,7	73,0	1,9	B/A

Tabelle 8 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
	20 mg/l Ketoconazol					
IDOC cpmB	25730,5	29704,0	25772,0			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	20572,3	29368,8	29492,7			
cpmB	47807,4	174320,8	147579,5			
cpmB'	45450	171000	144200			
Wf.	33?	46	47			
3H	142400	377800	313400	278000	34	DOC
fmol/mg/h	25,5	67,7	56,2	50		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	130,6	258,7	268,8			
cpmB	431504,7	290073,6	355756,7			
3H	(1352000)	640900	773200	707000	0,64	B
fmol/mg/h (242)	115	139	130			B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B (0,03448)	0,2737	0,1913	0,233		72	DOC/B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	12,5	17,5	17,0			
cpmB	10593,8	5652,7	6150,0			
3H	(33190)	12490	13370	12900	0,16	18
fmol/mg/h (5,95)	2,24	2,40	2,3			18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	40,73	51,32	57,85	50,0	3,4	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	20,5	33,3	35,7			
cpmB	506,1	5491,3	5583,8			
3H	(1586)	12130	12140	12100	0,34	A
fmol/mg/h (0,284)	2,17	2,18	2,2			A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	825,6	52,82	63,72	323	8,2	B/A

Tabelle 9

Versuch 9

Inkubationen von Gewebehomogenaten mit ^3H -11-Desoxycorticosteron:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -Corticosteron und ^3H -Aldosteron unter
verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat IV: eingefrorenes Nebennierenrindenadenom (klin.: Conn-Syn.)

Substrat: 1,2- ^3H -11-Desoxycorticosteron (IDOC)

Substratmenge: 309 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Dreifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbest.: 4- ^{14}C -11-Desoxycorticosteron (TDOC)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TDOC ^{14}C	60701,5	59514,3	58280,1			
TDOC 3H	5465	5182,5	5009,2			
IDOC 3H	813922	813922	813922			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	26339,3	29164,3	28057,0			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	34024,2	37161,0	40916,4			
cpmB	112286,8	109537,6	131635,7			
cpmB'	109200	106300	128100			
Wf.	56	62	70			
3H	201600	176100	188800	189000	1,0	DOC
fmol/mg/h	36,1	31,6	33,8	34		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	700,0	766,5	921,2			
cpmB	321773,8	356276,3	356872,7			
3H	593900	590300	525800	570000	1,0	B
fmol/mg/h	106	106	94,3	100		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,339	0,298	0,359	0,332	1,0	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	45,2	45,0	43,4			
cpmB	5803,7	6396,4	4569,8			
3H	10710	10600	6733	9350	1,0	A
fmol/mg/h	1,92	1,90	1,21	1,7		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	55,44	55,70	78,09	63,1	1,0	B/A

Tabelle 9 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bsiw.	
2,5 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	22883,2	24018,1	29759,1			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	35746,3	39588,3	35867,0			
cpmB	155758,3	308831,6	252989,1			
cpmB'	152500	305400	249900			
Wf.	59	67	62			
3H	268000	474900	420000	388000	2,1	DOC
fmol/mg/h	48,0	85,1	75,3	69		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	646,1	486,9	431,1			
cpmB	261641,8	164787,4	128441,2			
3H	459600	256300	215900	311000	0,55	B
fmol/mg/h	82,4	45,9	38,7	56		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	0,583	1,853	1,946	1,46	4,4	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	70,4	66,9	39,2			
cpmB	10673,8	7710,6	6299,5			
3H	18750	11990	10590	13800	1,5	A
fmol/mg/h	3,36	2,15	1,90	2,5		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	24,51	21,37	20,39	22,1	0,35	B/A
5 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	25392,3	31120,7	27164,8			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	28262,2	35505,9	37909,6			
cpmB	212474,0	262432,3	347274,4			
cpmB'	209900	259300	344000			
Wf.	47	60	65			
3H	466400	449700	547100	488000	2,6	DOC
fmol/mg/h	83,6	80,6	98,1	87		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	703,5	448,6	332,6			
cpmB	130919,2	164787,4	92709,0			
3H	290900	280400	147400	240000	0,42	B
fmol/mg/h	52,2	50,3	26,4	43		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	1,604	1,604	3,711	2,31	7,0	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	106,5	94,3	32,1			
cpmB	4521,9	3136,6	1952,3			
3H	11350	5439	3104	6630	0,71	A
fmol/mg/h	2,03	0,975	0,556	1,2		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	25,62	51,56	47,49	41,6	0,66	B/A

Tabelle 9 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
10 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	27305,5	30802,0	22820,6			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	32080,4	36930,0	34004,4			
cpmB	339585,4	338838,5	292687,6			
cpmB'	336700	335600	335600			
Wf.	53	62	58			
3H	659100	559500	513800	577000	3,1	DOC
fmol/mg/h	118	100	92,1	100		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	361,2	309,9	270,3			
cpmB	90514,1	107497,3	63124,0			
3H	177200	179200	111900	156000	0,27	B
fmol/mg/h	31,8	32,1	20,1	28		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	3,720	3,122	4,590	3,81	12	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	40,5	41,9	30,8			
cpmB	4521,9	6420,1	2652,8			
3H	8851	10710	4704	8090	0,87	A
fmol/mg/h	1,59	1,92	0,843	1,5		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	20,02	16,74	23,79	20,2	0,33	B/A
20 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	27875,1	27907,6	26351,3			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	28013,6	34830,1	35446,7			
cpmB	324154,4	384812,8	395820,3			
cpmB'	321600	381600	392800			
Wf.	46	59	61			
3H	721000	674500	668100	688000	3,6	DOC
fmol/mg/h	129	121	120	120		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	395,9	210,0	299,9			
cpmB	40243,6	39631,2	58954,6			
3H	90210	70050	100300	86800	0,15	B
fmol/mg/h	16,2	12,6	18,0	16		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	7,992	9,628	6,660	8,09	24	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	77,8	39,8	55,2			
cpmB	3150,2	2253,6	4777,3			
3H	7061	3984	8126	6390	0,68	A
fmol/mg/h	1,27	0,714	1,46	1,1		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	12,77	17,58	12,34	14,2	0,23	B/A

Tabelle 10

Versuch 10

Inkubationen von Gewebekomogenaten mit ^3H -11-Desoxycortico-
steron: Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -Cortico-
steron und ^3H -Aldosteron unter
verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat V: eingefrorenes Nebennierenrindenadenom (klin.: Cushing-Syn.)

Substrat: 1,2- ^3H -11-Desoxycortico-
steron (IDOC)

Substratmenge: 386 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 1h; Dreifachansatz

Indikator zur Wiederfindungsbest.: 4- ^{14}C -11-Desoxycortico-
steron (TDOC)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TDOC 14C	61314,5	59160,2	53242,0			
TDOC 3H	5654,8	5234,3	4606,9			
IDOC 3H	1015154	1015154	1015154			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	25161,7	35517,2	35397,7			
11-Desoxycortico- steron (DOC)						
cpmA	26856,5	28465,2	32292,2			
cpmB	422269,3	478049,8	495486,5			
cpmB'	419800	475500	492700			
Wf.	44	48	61			
3H	958400	988300	812300	920000	1,0	DOC
fmol/mg/h	344	354	291	330		DOC
Cortico- steron (B)						
cpmA	171,4	150,9	134,7			
cpmB	10392,7	10860,5	10338,2			
3H	23730	22570	17050	21100	100	B
fmol/mg/h	8,51	8,09	6,11	7,6		B
11-Desoxycortico- steron / Cortico- steron (DOC/B)						
DOC / B	40,40	43,80	47,70	89,0	1,0	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	2,0	33,7	28,0			
cpmB	1204,8	1010,0	932,7			
3H	2751	2099	1538	2130	100	A
fmol/mg/h	0,986	0,753	0,551	0,76		A
Cortico- steron / Aldosteron (B/A)						
B / A	8,625	10,75	11,08	10,2	1,0	B/A

Tabelle 10 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
5 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	45036,6	29360,8	30394,0			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	29939,0	28974,4	34153,0			
cpmB	481647,3	488565,1	484605,1			
cpmB'	478900	486000	481600			
Wf.	49	49	64			
3H	980800	992300	750900	908000	0,99	DOC
fmol/mg/h	352	356	269	330		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	130,7	110,0	133,3			
cpmB	5255,1	5395,3	5605,4			
3H	10760	11020	8738	10200	48	B
fmol/mg/h	3,86	3,95	3,13	3,6		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	91,13	90,08	85,93	89,1	2,0	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	31,1	29,3	44,3			
cpmB	958,6	849,0	1069,6			
3H	1963	1734	1667	1790	0,84	A
fmol/mg/h	0,704	0,622	0,598	0,64		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	5,482	6,353	5,242	5,69	0,56	B/A
10 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	39953,0	28847,9	32793,4			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	27123,4	26546,4	34153,0			
cpmB	429389,2	408231,6	387329,1			
cpmB'	426900	405900	385000			
Wf.	44	45	51			
3H	965000	904500	758700	876000	0,95	DOC
fmol/mg/h	346	324	272	310		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	124,4	80,4	75,8			
cpmB	5204,3	3606,7	2760,2			
3H	11770	8038	5440	8410	40	B
fmol/mg/h	4,22	2,88	1,98	3,0		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	82,02	112,5	139,5	111	2,5	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	31,9	27,0	33,3			
cpmB	1105,1	762,7	743,0			
3H	2498	1699	1464	1890	89	A
fmol/mg/h	0,896	0,609	0,525	0,68		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	4,710	4,731	3,716	4,39	0,43	B/A

Tabelle 10 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
20 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	38282,3	33789,3	34890,6			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	26649,1	18432,1	28591,2			
cpmB	422944,2	286454,8	438573,2			
cpmB'	420500	284800	436100			
Wf.	43	31?	54			
3H	967500	914200	812100	898000	0,98	DOC
fmol/mg/h	347	328	292	320		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	112,5	80,3	95,1			
cpmB	3943,0	3396,5	3519,7			
3H	9072		6554	7810	37	B
fmol/mg/h	3,25		2,35	2,8		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	106,6		123,9	115	2,6	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	34,9	23,7	91,2			
cpmB	803,9	711,0	1638,7			
3H	1849		3052	2450	1,2	A
fmol/mg/h	0,663		1,09	0,88		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	4,907		2,147	3,57	0,35	B/A
40 mg/l Ketoconazol						
IDOC cpmB	35308,3	32619,4	30225,0			
11-Desoxycorticosteron (DOC)						
cpmA	28842,0	28657,0	30273,5			
cpmB	447809,1	442187,7	419090,0			
cpmB'	445100	439700	416500			
Wf.	47	48	57			
3H	946300	907600	732400	862000	0,94	DOC
fmol/mg/h	339	325	263	310		DOC
Corticosteron (B)						
cpmA	97,7	97,5	101,8			
cpmB	3479,7	3851,3	3741,1			
3H	7397	7951	6580	7310	35	B
fmol/mg/h	2,65	2,85	2,36	2,6		B
11-Desoxycorticosteron / Corticosteron (DOC/B)						
DOC / B	128,0	114,0	111,3	118	2,7	DOC/B
Aldosteron (A)						
cpmA	36,5	19,7	28,4			
cpmB	961,3	697,9	843,5			
3H	2044	1441	1484	1660	0,78	A
fmol/mg/h	0,733	0,517	0,532	0,59		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	3,619	5,518	4,434	4,52	0,45	B/A

Tabelle 11

Versuch 11

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -Corticosteron:
Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron und ^3H -Aldosteron unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat VI: Nebenniere von Tumornephrektomie

Substrat: 1,2- ^3H -Corticosteron (IB)

Substratmenge: 218 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Dreifachansatz

Indikatoren zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Corticosteron (TB) und 4- ^{14}C -Aldosteron (TA)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TB 14C	75929,0	75929,0	75929,0			
TB 3H	8588,1	8588,1	8588,1			
TA 14C	51763,4	51763,4	51763,4			
IB 3H	725251,5	725251,5	725251,5			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	40587,5	53369,7	46491,0			
cpmB	235427,1	329410,8	296644,1			
cpmB'	230800	323300	291300			
Wf.	53	70	61			
3H	431700	459900	475700	456000	1,0	B
fmol/mg/h	65,0	69,2	71,6	69		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	58,5	72,8	34,5			
cpmB	13072,6	30621,1	16019,5			
3H	24460	43570	26160	31400	1,0	18
fmol/mg/h	3,68	6,56	3,94	4,7		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	17,65	10,56	18,18	15,5	1,0	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	23127,6	38626,1	21883,6			
cpmB	11565,4	29821,6	30213,9			
cpmB'	8902	25370	27690			
3H	20480	34950	67320	40900	1,0	A
fmol/mg/h	3,08	5,26	10,1	6,1		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	21,08	13,16	7,066	13,8	1,0	B/A

Tabelle 11 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
2,5 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	50695,1	48682,9	41711,9			
cpmB	327231,1	341531,3	266974,4			
cpmB'	321400	335900	262200			
Wf.	67	64	55			
3H	481400	523900	477200	494000	1,1	B
fmol/mg/h	72,5	78,9	71,8	74		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	118,7	35,4	25,8			
cpmB	10773,2	14752,0	5978,5			
3H	16140	23010	10880	16700	0,53	18
fmol/mg/h	2,43	3,46	1,64	2,5		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	29,83	22,77	43,85	32,2	2,1	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	23706,0	36452,8	17822,3			
cpmB	30379,4	15958,4	6759,5			
cpmB'	27650	11760	4707			
3H	62050	17160	14050	31100	0,76	A
fmol/mg/h	9,34	2,58	2,12	4,7		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	7,758	30,53	33,97	24,1	1,8	B/A
5 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	54457,8	48639,1	50992,2			
cpmB	366472,7	352587,6	316225,8			
cpmB'	360200	347000	310400			
Wf.	71	64	67			
3H	502200	541700	462100	502000	1,1	B
fmol/mg/h	75,6	81,6	69,6	76		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	45,0	46,0	46,4			
cpmB	6977,2	5718	12102,2			
3H	9728	8926	18020	12200	0,39	18
fmol/mg/h	1,46	1,34	2,71	1,8		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	51,63	60,78	25,64	46,0	3,0	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	25941,8	36135,5	30182,0			
cpmB	19611,9	27616,0	26076,0			
cpmB'	16620	23450	22600			
3H	34090	34530	39840	36200	0,88	A
fmol/mg/h	5,13	5,20	6,00	5,4		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	14,73	15,69	11,60	14,0	1,0	B/A

Tabelle 11 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
10 mg/1 Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	48770,8	43747,7	50076,8			
cpmB	340589,9	287761,7	301970,9			
cpmB'	335000	282700	296200			
Wf.	64	58	66			
3H	521500	490700	449100	487000	1,1	B
fmol/mg/h	78,5	73,9	67,6	73		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	45,6	47,7	32,8			
cpmB	4848,0	8227,6	1373,3			
3H	7548	14280	2082	7970	0,25	18
fmol/mg/h	1,14	2,15	0,313	1,2		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	69,09	34,36	215,7	106	6,9	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	17241,9	33549,1	21976,5			
cpmB	4142,5	19975,0	18167,1			
cpmB'	2157	16110	15640			
3H	6655	25550	37850	23400	0,57	A
fmol/mg/h	1,00	3,85	5,70	3,5		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	78,37	19,21	11,87	36,5	2,7	B/A
20 mg/1 Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	53901,1	44674,9	47804,1			
cpmB	342988,2	290304,7	328206,9			
cpmB'	336800	285200	322700			
Wf.	71	59	63			
3H	474400	484600	512600	491000	1,1	B
fmol/mg/h	71,4	73,0	77,2	74		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	61,4	43,1	28,9			
cpmB	2097,9	5465,5	8061,2			
3H	2955	9289	12800	8350	0,27	18
fmol/mg/h	0,445	1,40	1,93	1,3		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	160,5	52,17	40,03	84,2	5,5	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	32110,1	33633,8	17471,7			
cpmB	33350,5	26134,0	27655,8			
cpmB'	29650	22260	25640			
3H	49130	35210	78080	54100	1,3	A
fmol/mg/h	7,40	5,30	11,8	8,2		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	9,657	13,76	6,564	10	0,73	B/A

Tabelle 12

Versuch 12

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -Corticosteron:

Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron und ^3H -Aldosteron unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat VII: Nebenniere von Nierentransplantation

Substrat: 1,2- ^3H -Corticosteron (IB)

Substratmenge: 200 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Dreifachansatz

Indikatoren zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Corticosteron (TB) und 4- ^{14}C -Aldosteron (TA)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TB 14C	73472,0	73472,0	73472,0			
TB 3H	6878,3	6878,3	6878,3			
TA 14C	27493,9	27493,9	27493,9			
IB 3H	662581	662581	662581			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	45733,4	53754,6	29999,0			
cpmB	225265,0	259155,1	167279,4			
cpmB'	220000	254100	164500			
Wf.	62	73	41			
3H	353400	347300	402800	368000	1,0	B
fmol/mg/h	53,2	52,3	60,6	55		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	23,0	37,5	26,4			
cpmB	2143,7	6504,8	2911,8			
3H	3444	8891	7131	6490	1,0	18
fmol/mg/h	0,519	1,34	1,07	0,98		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	102,6	39,07	56,48	66,1	1,0	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	12258,5	16077,4	10010,4			
cpmB	24169,9	27939,6	12195,5			
cpmB'	22760	26430	11260			
3H	44930	39790	27220	37300	1,0	A
fmol/mg/h	6,76	5,99	4,10	5,6		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	7,866	8,729	14,80	10,5	1,0	B/A

Tabelle 12 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
2,5 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	50438,7	53383,3	48316,7			
cpmB	261215,7	292903,4	279062,0			
cpmB'	255400	287900	274500			
Wf.	69	73	66			
3H	372000	396200	417500	395000	1,1	B
fmol/mg/h	56,0	59,6	62,9	60		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	26,5	29,8	98,6			
cpmB	1878,3	5548,7	3372,4			
3H	2736	7637	5128	5170	0,80	18
fmol/mg/h	0,412	1,15	0,772	0,78		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	136,0	51,89	81,41	89,8	1,4	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	14061,7	15715,6	13875,1			
cpmB	17750	15580	18650			
cpmB'	16130	14110	17350			
3H	27760	21730	30260	26600	0,71	A
fmol/mg/h	4,18	3,27	4,56	4,0		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	13,40	18,23	13,80	15,1	1,5	B/A
5 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	51350,5	49008,8	48962,4			
cpmB	253307,7	252652,8	284675,7			
cpmB'	248500	248000	280000			
Wf.	70	67	67			
3H	355500	371900	420300	383000	1,0	B
fmol/mg/h	53,5	56,0	63,3	58		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	25,1	28,1	25,2			
cpmB	1382,0	2344,9	2917,8			
3H	1977	3515	4378	3290	0,51	18
fmol/mg/h	0,298	0,529	0,659	0,50		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	179,8	105,8	95,99	127	1,9	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	8733,2	13865,4	12307,1			
cpmB	27075,9	21956,0	17036,2			
cpmB'	26260	20660	15880			
3H	72770	36060	31230	46700	1,3	A
fmol/mg/h	11,0	5,43	4,70	7,0		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	4,886	10,31	13,46	9,55	0,91	B/A

Tabelle 12

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
10 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	49055,1	43425,8	35088,9			
cpmB	268612,5	234059,1	203874,4			
cpmB'	264000	230000	200600			
Wf.	67	59	48			
3H	395400	389100	420000	402000	1,1	B
fmol/mg/h	59,5	58,6	63,2	60		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	24,9	15,9	18,7			
cpmB	1369,4	1659,8	1828,1			
3H	2051	2808	3828	2900	0,45	18
fmol/mg/h	0,309	0,423	0,576	0,44		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	192,8	138,6	109,7	147	2,2	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	11639,9	12494,3	12785,7			
cpmB	23906,3	16392,0	19554,8			
cpmB'	22820	15220	18360			
3H	47440	29480	34750	37200	1,0	A
fmol/mg/h	7,14	4,44	5,23	5,6		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	8,336	13,20	12,09	11,2	1,1	B/A
20 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	43733,6	47516,2	42224,8			
cpmB	254346,4	235958,2	167634,3			
cpmB'	250200	231500	163700			
Wf.	60	65	57			
3H	420400	358000	284800	354000	0,96	B
fmol/mg/h	63,3	53,9	42,9	53		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	30,1	19,4	16,0			
cpmB	1043,3	2071,6	450,9			
3H	1753	3203	784,6	1910	0,30	18
fmol/mg/h	0,264	0,482	0,118	0,29		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	239,9	111,8	363,0	238	3,6	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	14613,4	13896,5	12989,2			
cpmB	23679,0	21254,7	19103,1			
cpmB'	22310	19950	17890			
3H	36950	34750	33330	35000	0,94	A
fmol/mg/h	5,56	5,23	5,02	5,3		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	11,38	10,30	8,546	10,1	0,96	B/A

Tabelle 13

Versuch 13

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -Corticosteron:

Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron und ^3H -Aldosteron unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat VIII: Nebenniere von Tumornephrektomie

Substrat: 1,2- ^3H -Corticosteron (IB)

Substratmenge: 200 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h; Zweifachansatz

Indikatoren zur Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Corticosteron (TB) und 4- ^{14}C -Aldosteron (TA)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TB 14C	26316,0	26316,0			
TB 3H	2532,3	2532,3			
TA 14C	35921,9	35921,9			
IB 3H	659760,4	659760,4			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol					
Corticosteron (B)					
cpmA	16331,6	13575,8			
cpmB	253742,4	161017,4			
cpmB'	252200	159700			
Wf.	62	52			
3H	406300	309600	358000	1,0	B
fmol/mg/h	61,2	46,6	54		B
18-Hydroxycorticosteron (18)					
cpmA	77,0	162,0			
cpmB	17564,7	17422,0			
3H	28300	33770	31000	1,0	18
fmol/mg/h	4,26	5,08	4,7		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)					
B / 18	14,36	9,167	11,8	1,0	B/18
Aldosteron (A)					
cpmA	13024,2	9484,7			
cpmB	24816,5	23936,0			
cpmB'	23560	23020			
3H	64990	87200	76100	1,0	A
fmol/mg/h	9,78	13,1	11		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)					
B / A	6,252	3,550	4,90	1,0	B/A

Tabelle 13 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
2,5 mg/l Ketoconazol					
Corticosteron (B)					
cpmA	12174,5	11843,8			
cpmB	144562,2	159256,3			
cpmB'	143400	158100			
Wf.	46	45			
3H	309900	351300	331000	0,92	B
fmol/mg/h	46,7	52,9	50		B
18-Hydroxycorticosteron (18)					
cpmA	71,5	51,0			
cpmB	15920	11380,2			
3H	34410	25290	29900	0,96	18
fmol/mg/h	5,18	3,81	4,5		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)					
B / 18	9,007	13,89	11,5	0,97	B/18
Aldosteron (A)					
cpmA	10875,7	6833,7			
cpmB	29584,5	15154,0			
cpmB'	28540	14500			
3H	94260	76200	85200	1,1	A
fmol/mg/h	14,2	11,5	13		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)					
B / A	3,288	4,610	3,95	0,81	B/A
5 mg/l Ketoconazol					
Corticosteron (B)					
cpmA	23592,8	17407,2			
cpmB	343169,8	230929,7			
cpmB'	340900	229300			
Wf.	90	66			
3H	380200	346600	363000	1,0	B
fmol/mg/h	57,2	52,2	55		B
18-Hydroxycorticosteron (18)					
cpmA	221,0	55,7			
cpmB	19467,2	13234,2			
3H	21710	20000	20900	0,67	18
fmol/mg/h	3,27	3,01	3,1		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)					
B / 18	17,51	17,32	17,4	1,5	B/18
Aldosteron (A)					
cpmA	21573,7	10075,2			
cpmB	47533,2	22357,5			
cpmB'	45460	21390			
3H	75690	76260	76000	1,0	A
fmol/mg/h	11,4	11,5	11		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)					
B / A	5,024	4,545	4,78	0,98	B/A

Tabelle 13 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
10 mg/l Ketoconazol					
Corticosteron (B)					
cpmA	17331,5	10131,1			
cpmB	261395,3	166381,1			
cpmB'	259700	165400			
Wf.	66	38			
3H	394400	429700	412000	1,2	B
fmol/mg/h	59,4	64,7	62		B
18-Hydroxycorticosteron (18)					
cpmA	252,7	123,5			
cpmB	21714,0	9851,2			
3H	32990	25590	29300	0,94	18
fmol/mg/h	4,97	3,85	4,4		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)					
B / 18	11,96	16,79	14,4	1,2	B/18
Aldosteron (A)					
cpmA	12809,0	9475,0			
cpmB	12922,7	12627,2			
cpmB'	11690	11720			
3H	32780	44420	38600	0,51	A
fmol/mg/h	4,94	6,69	5,8		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)					
B / A	12,03	9,673	10,9	2,2	B/A
20 mg/l Ketoconazol					
Corticosteron (B)					
cpmA	17895,6	3709,2			
cpmB	265308,8	56606,2			
cpmB'	263600	56250			
Wf.	68	14			
3H	387600	399100	393000	1,1	B
fmol/mg/h	58,4	60,1	59		B
18-Hydroxycorticosteron (18)					
cpmA	181,7	39,7			
cpmB	11287,2	2760,0			
3H	16600	19580	18100	0,58	18
fmol/mg/h	2,50	2,95	2,7		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)					
B / 18	23,35	20,38	21,9	1,9	B/18
Aldosteron (A)					
cpmA	13463,5	1993,5			
cpmB	23747,5	5713,5			
cpmB'	22450	5522			
3H	59900	99500	79700	1,1	A
fmol/mg/h	9,02	15,0	12		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)					
B / A	6,471	4,011	5,24	1,1	B/A

Tabelle 14

Versuch 14

Inkubationen von Gewebeschnitten mit ^3H -Corticosteron:

Bestimmung der Umsetzung zu ^3H -18-Hydroxycorticosteron und ^3H -Aldosteron unter verschiedenen Ketoconazolkonzentrationen.

Präparat IX: Nebennierenrinde eines entfernten Phäochromocytoms

Substrat: 1,2- ^3H -Corticosteron (IB)

Substratmenge: 200 fmol/mg Gewebe

Inkubationsdauer: 2h, Dreifachansatz

Indikatoren zu Wiederfindungsbestimmung: 4- ^{14}C -Corticosteron (TB) und 4- ^{14}C -Aldosteron (TA)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
TB 14C	77492,2	77492,2	77492,2			
TB 3H	7450,4	7450,4	7450,4			
TA 14C	38865,9	38865,9	38865,9			
IB 3H	659760,4	659760,4	659760,4			
Basalwerte (Bslw.): 0 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	46613,1	48620,3	51399,7			
cpmB	286446,6	300705,9	290099,4			
cpmB'	282000	296000	285200			
Wf.	60	63	66			
3H	468800	471800	429900	457000	1,0	B
fmol/mg/h	70,6	71,0	64,7	69		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	132,7	61,5	52,8			
cpmB	15630,3	12025,4	11192,9			
3H	25990	19170	16880	20700	1,0	18
fmol/mg/h	3,91	2,89	2,54	3,1		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	18,04	24,62	25,48	22,7	1,0	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	1361,0	1007,2	947,5			
cpmB	830,2	340,5	743,2			
cpmB'	699,3	243,7	652,1			
3H	19970	9403	26750	18700	1,0	A
fmol/mg/h	3,01	1,42	4,03	2,8		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	23,47	50,18	16,07	29,9	1,0	B/A

Tabelle 14 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
2,5 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	46908,1	48988,7	47650,9			
cpmB	295927,2	322402,9	283392,1			
cpmB'	291400	317700	278800			
Wf.	61	63	61			
3H	481400	502500	453400	479000	1,1	B
fmol/mg/h	72,5	75,7	68,3	72		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	101,4	65,3	73,2			
cpmB	2673,8	5122,6	13053,0			
3H	4417	8103	21230	11300	0,54	18
fmol/mg/h	0,665	1,22	3,20	1,7		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	109,0	62,02	21,36	64,1	2,8	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	959,0	621,7	1077,5			
cpmB	356,0	561,0	664,0			
cpmB'	263,8	501,2	560,4			
3H	10690	31330	20210	20800	1,1	A
fmol/mg/h	1,61	4,72	3,04	3,1		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	45,03	16,04	22,43	27,8	0,93	B/A
5 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	51403,3	45600,6	48796,2			
cpmB	322536,5	291676,5	306960,0			
cpmB'	317600	287300	302300			
Wf.	66	59	63			
3H	478800	488200	480000	482000	1,1	B
fmol/mg/h	72,1	73,5	72,3	73		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	47,1	72,9	69,8			
cpmB	6245,9	10816,4	11394,5			
3H	9416	18380	18100	15300	0,74	18
fmol/mg/h	1,42	2,77	2,73	2,3		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	50,85	26,56	26,53	34,7	1,5	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	950,0	790,2	1220,7			
cpmB	842,0	393,7	1509,0			
cpmB'	750,7	317,7	1391			
3H	30710	15630	44310	30200	1,6	A
fmol/mg/h	4,62	2,35	6,67	4,5		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	15,59	31,24	10,83	19,2	0,64	B/A

Tabelle 14 (Fortsetzung)

	Ansatz 1	Ansatz 2	Ansatz 3	Mittelwert	Mittelw./Bslw.	
10 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	34223,3	52349,8	45329,9			
cpmB	292820,3	310000,4	273078,0			
cpmB'	289500	305000	268700			
Wf.	44	68	58			
3H	655600	451400	459400	522000	1,1	B
fmol/mg/h	98,7	68,0	69,2	79		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	51,0	79,6	47,4			
cpmB	5490,8	6811,9	6521,3			
3H	12430	10080	11150	11200	0,54	18
fmol/mg/h	1,87	1,52	1,68	1,7		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	52,73	44,77	41,21	46,2	2,0	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	1152,7	976,7	1184,0			
cpmB	537,5	310,0	1086,0			
cpmB'	426,7	216,1	972,2			
3H	14390	8599	31910	18300	0,98	A
fmol/mg/h	2,17	1,29	4,80	2,8		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	45,57	52,50	14,40	37,5	1,3	B/A
20 mg/l Ketoconazol						
Corticosteron (B)						
cpmA	51306,4	50384,1	49131,5			
cpmB	334127,0	320694,1	268210,7			
cpmB'	329200	315900	263500			
Wf.	66	65	63			
3H	497200	485800	415600	466000	1,0	B
fmol/mg/h	74,9	73,1	62,6	70		B
18-Hydroxycorticosteron (18)						
cpmA	48,9	121,7	41,3			
cpmB	3246,7	7718,0	6441,3			
3H	4904	11870	10160	8980	0,43	18
fmol/mg/h	0,738	1,79	1,53	1,4		18
Corticosteron / 18-Hydroxycorticosteron (B/18)						
B / 18	101,4	40,92	40,91	61,1	2,69	B/18
Aldosteron (A)						
cpmA	994,5	886,0	940,7			
cpmB	406,0	278,5	712,0			
cpmB'	310,4	193,3	621,6			
3H	12130	8480	25680	15400	0,83	A
fmol/mg/h	1,83	1,28	3,87	2,3		A
Corticosteron / Aldosteron (B/A)						
B / A	40,99	57,28	16,18	38,2	1,3	B/A

Lebenslauf

Am 20. Juni 1961 wurde ich als dritter Sohn des Arztes Dr. med. Ignaz Jaspers und seiner Ehefrau Dr. med. Waltraud Jaspers, geb. Teschner, in Greven/Westf. geboren.

Von 1967 bis 1971 besuchte ich die Grundschule, danach das Gymnasium Augustinianum in Greven, wo ich 1980 die Schulausbildung mit dem Abitur abschloß.

Im Herbst 1980 nahm ich das Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München auf, wo ich im August 1982 die ärztliche Vorprüfung bestand. Nach dem Ersten Staatsexamen im August 1983 und dem Zweiten Staatsexamen im August 1985 legte ich im Herbst 1986 das Dritte Staatsexamen in München ab.

